

Université de Montréal

**Impact d'un repas méditerranéen complet sur les fonctions métaboliques et
endothéliales postprandiales en comparaison à un repas riche en acides gras saturés
chez des hommes sains**

par

Sébastien Lacroix

Département de nutrition

Faculté de médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en nutrition

Novembre, 2013

© Sébastien Lacroix, 2013

Université de Montréal

Faculté de médecine

Cette thèse intitulée :

Impact d'un repas méditerranéen complet sur les fonctions métaboliques et endothéliales postprandiales en comparaison à un repas riche en acides gras saturés chez des hommes sains

présentée par :

Sébastien Lacroix

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

May Faraj Ph.D.

Président-rapporteur

Anil Nigam M.D. M.Sc.

Directeur de recherche

Christine Des Rosiers Ph.D.

Codirectrice

Michèle Brochu Ph.D.

Membre du jury

Charles Couillard Ph.D.

Examineur externe

Éric Thorin Ph.D

Représentant du doyen

Résumé

Contexte L'américanisation des habitudes de vie, notamment de l'alimentation, semble être en grande partie responsable de l'augmentation incessante de l'incidence élevée des maladies cardiovasculaires. La période postprandiale, où l'homéostasie vasculaire et métabolique est mise à l'épreuve, est d'une importance considérable dans le développement ou la prévention de l'athérosclérose et représente maintenant la majeure partie du temps d'éveil. La compréhension de l'influence de la composition d'un repas sur son impact postprandial est donc essentielle dans notre lutte dans la prévention de ces maladies.

Objectifs L'objectif principal de ce projet de recherche était d'étudier les réponses endothéliale et métabolique à un repas de type méditerranéen mixte (MMM), puisqu'elles sont inconnues. Ce projet avait aussi pour objectifs d'évaluer l'impact microvasculaire d'un tel repas et de caractériser la composition postprandiale des acides gras plasmatiques. À titre comparatif, ces éléments ont aussi été étudiés suite à un repas riche en gras saturés (HSFAM).

Méthodes Vingt-huit (28) hommes sains, exempts de facteurs de risque de maladies cardiovasculaires ont reçu de façon randomisée les deux repas à l'étude. Le MMM, composé de saumon frais et de légumes cuits dans l'huile d'olive, contenait 7.87g de SFA et 2.29g d'acides gras polyinsaturés oméga-3, tandis que le HSFAM, composé d'un sandwich déjeuner avec œuf, saucisse et fromage, contenait 14.78g de SFA. Les mesures de la fonction endothéliale mesurée par échographie brachiale (FMD), de la fonction microvasculaire mesurée par spectroscopie proche de l'infrarouge (NIRS) et de la composition des acides gras plasmatisque ont été effectuées à jeun et en période postprandiale.

Résultats Deux sous-groupes de réponders aux repas à l'étude se sont dégagés de ces travaux. Un premier sous-groupe de sujets ayant une triglycéridémie à jeun élevée, mais normale (hnTG) a démontré des altérations endothéliales seulement suivant le repas HSFAM. Un second sous-groupe de sujets ayant une triglycéridémie plus faible et normale

(lnTG) n'a quant à lui pas subi d'altérations endothéliales suivant les deux repas à l'étude. Les sujets hnTG ont aussi démontré une charge triglycéridémique postprandiale (iAUC) plus importante et qui était de surcroît enrichie en acide stéarique suivant la HSFAM et en acide gras polyinsaturés oméga-3 suivant le MMM. L'évaluation par NIRS de la fonction microvasculaire nous révèle un ralentissement de la réoxygénation post-ischémique qui suggère une altération postprandiale du recrutement capillaire chez les sujets hnTG seulement. De telles altérations, qui semblent être plus importantes suivant le HSFAM, pourraient être en partie responsables de l'impact endothélial de ce repas.

Conclusions Cet essai clinique démontre donc de façon novatrice qu'un repas MMM n'a pas d'effet endothélial délétère et que cette neutralité est indépendante de la triglycéridémie à jeun. De plus, une triglycéridémie à jeun élevée mais normale semble indiquer des dysfonctions endothéliales et métaboliques à des épreuves nutritionnelles tel un repas HSFAM. La consommation de repas méditerranéens par des individus sains à la triglycéridémie marginale serait bénéfique, peut-être même davantage que pour des individus de triglycéridémie plus faible, dans la prévention de l'athérogénèse et des maladies cardiovasculaires.

Mots-clés : Vasodilatation induite par le débit sanguin, échographie brachiale, fonction microvasculaire, spectroscopie proche de l'infrarouge, triglycéridémie à jeun, inflammation, stress oxydatif, composition d'acides gras plasmatiques, facteurs de risque cardiovasculaire

Abstract

Background The Westernization of lifestyles, notably dietary habits, seems to be largely responsible for the ongoing increase of incidence of cardiovascular diseases. The postprandial period, where vascular and metabolic homeostatic regulating processes are under pressure, is of considerable importance in the development or prevention of atherosclerosis and now represents the majority of waking hours. The understanding of the postprandial effects of meals of varying composition is therefore essential in our effort to prevent such diseases.

Objectives The main objective of this research project was to study the endothelial and metabolic responses to a mixed Mediterranean meal (MMM), since they are unknown. This project also aimed to evaluate the microvascular impact of such a meal and to characterize the composition of postprandial plasma fatty acids. These elements were also evaluated following a saturated fatty meal (HSFAM) for comparison.

Methods Twenty-eight (28) healthy men free of cardiovascular diseases and risk factors were randomly assigned one of two test meals. The MMM, consisting of fresh salmon and vegetables cooked in olive oil, contained 7.87g of SFA and 2.29g of omega- 3 fatty acids, while the HSFAM, consisting of a breakfast sandwich with egg, sausage and cheese contained 14.78g of SFA. Evaluations of endothelial function by brachial ultrasound (FMD), of microvascular function by near-infrared spectroscopy (NIRS) and of plasma fatty acids composition were done in the fasted and postprandial states.

Results Two subgroups of responders to the test meals emerged from this work. A first subgroup of subjects with high-normal fasting triglyceridemia (hnTG) experienced impairments of endothelial function following the HSFAM while a second subgroup of subjects with low-normal triglyceridemia (lnTG) did not experience any endothelial alterations following this meal. Interestingly, the MMM had no deleterious endothelial impact in any of those subgroups. Moreover, the hnTG subjects demonstrated greater postprandial triglyceridemic load (iAUC) that was in addition enriched with stearic acid after HSFAM and omega-3 PUFA following the MMM. Assessment of microvascular function revealed

postprandial prolongation of post-ischemic reoxygenation only in hnTG subjects suggestive of alterations of capillary recruitment. These changes, which seemed to be more important after the HSFAM, could be partly responsible for its negative impact on FMD.

Conclusions This clinical trial demonstrates in innovative ways that a MMM has no deleterious effects on endothelial function irrespective of triglyceridemia in normal ranges. In addition, high but normal fasting triglyceride levels suggest metabolic and endothelial dysfunctions following nutritional challenges such as a HSFAM. Consumption of Mediterranean meals by healthy individuals with marginal triglyceride levels would be beneficial, perhaps even more so than for individuals with lower triglyceride levels, in preventing atherogenesis and cardiovascular diseases.

Keywords: Flow-mediated dilatation, brachial echography, microvascular function, near infrared spectroscopy, fasting triglyceridemia, inflammation, oxidative stress, plasma fatty acid composition, cardiovascular risk factors

Table des matières

RÉSUMÉ	III
ABSTRACT	V
LISTE DES TABLEAUX	X
LISTE DES FIGURES	XI
LISTE DES ANNEXES	XIII
ABRÉVIATIONS	XIV
REMERCIEMENTS	XVI
AVANT-PROPOS	1
CADRE THÉORIQUE	4
1. ASPECTS PHYSIOLOGIQUES	4
1.1 LE SYSTÈME VASCULAIRE	4
1.1.1 ANATOMIE DE LA PAROI ARTÉRIELLE SAIN	4
1.1.2 LA FONCTION ENDOTHÉLIALE	5
1.1.3 LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE	8
1.1.4 ÉVALUATION DE LA FONCTION ENDOTHÉLIALE	9
1.1.4.1 INFUSION D'AGONISTES ENDOTHÉLIAUX	9
1.1.4.2 VASODILATATION INDUITE PAR LE DÉBIT SANGUIN	10
1.1.4.3 DÉBIT SANGUIN HYPERHÉMIQUE	10
1.1.4.4 PLÉTHYSMOGRAPHIE PÉRIPHÉRIQUE	11
1.1.4.5 THERMOMÉTRIE PÉRIPHÉRIQUE	12
1.1.4.6 SPECTROSCOPIE PROCHE DE L'INFRAROUGE	12
1.1.4.7 MARQUEURS ENDOTHÉLIAUX CIRCULANTS	12
1.2 MÉTABOLISME DES LIPOPROTÉINES	14
1.2.1 CONTENU, STRUCTURE ET RÔLE DES LIPOPROTÉINES	14
1.2.2 TRANSPORT DES LIPIDES ENDOGÈNES	15
1.2.3 TRANSPORT DES LIPIDES EXOGENES	16
1.3 L'ATHÉROSCLÉROSE	19
1.3.1 DÉVELOPPEMENT DE L'ATHÉROME	19
1.3.2 RUPTURE DE PLAQUES ET ÉVÈNEMENTS CARDIOVASCULAIRES	21

1.4	FACTEURS DE RISQUE DE MALADIES CARDIOVASCULAIRES	24
1.4.1	OBÉSITÉ	25
1.4.2	DIABÈTE	28
1.4.3	DYSLIPIDÉMIES	29
1.4.3.1	HYPERCHOLESTÉROLÉMIE	29
1.4.3.2	HYPERTRIGLYCÉRIDÉMIE	30
1.4.3.3	FAIBLES NIVEAUX DE HDL	32
1.4.3.4	MARQUEURS LIPIDIQUES ÉMERGEANTS	33
1.4.4	HYPERTENSION ARTÉRIELLE	34
1.4.5	INACTIVITÉ PHYSIQUE	34
1.4.6	TABAGISME	35
1.4.7	SYNDROME ET TRIADE MÉTABOLIQUE	36
1.5	PRÉVENTION DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES	39
2.	ASPECTS NUTRITIONNELS	40
2.1	L'ALIMENTATION, FACTEUR DE RISQUE ET DE PROTECTION CARDIOVASCULAIRE	40
2.1.1	RÉVOLUTION INDUSTRIELLE ET DIÈTE NORD-AMÉRICAINE	40
2.1.2	DIÈTE MÉDITERRANÉENNE	41
2.1.3	EFFETS MÉTABOLIQUES DES COMPOSANTES CARACTÉRISANT CES DIÈTES	45
2.1.3.1	BOISSONS SUCRÉES	45
2.1.3.2	VIANDES ROUGES ET ACIDES GRAS SATURÉS	46
2.1.3.3	HUILES VÉGÉTALES PARTIELLEMENT HYDROGÉNÉES	47
2.1.3.4	SODIUM	47
2.1.3.5	HUILE D'OLIVE EXTRA-VIERGE ET POLYPHÉNOLS	48
2.1.3.6	POISSONS ET SUPPLÉMENTS D'OMÉGA-3	49
2.1.3.7	NOIX ET LÉGUMINEUSES	50
2.1.3.8	FRUITS ET LÉGUMES	50
2.1.3.9	ALCOOL	51
2.2	L'IMPACT POSTPRANDIAL D'UN REPAS HYPERCALORIQUE	53
2.2.1	ARTICLE DE REVUE DE LITTÉRATURE	55
	CADRE CLINIQUE	93
3.	OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES	94
3.1	PROBLÉMATIQUES	94
3.2	OBJECTIFS	95
3.3	HYPOTHÈSES	96
4.	MÉTHODOLOGIE	97

4.1	POPULATION ÉTUDIÉE	97
4.2	DEVIS EXPÉRIMENTAL	98
4.2.1.1	VISITE DE SÉLECTION	98
4.2.1.2	VISITE 1 (1 ^{ER} REPAS)	98
4.2.1.3	VISITE 2 (2 ^E REPAS)	99
4.3	COMPOSITIONS DES REPAS À L'ÉTUDE	99
4.4	RECUEIL DES DONNÉES	100
4.4.1	ÉVALUATION DES PARAMÈTRES ANTHROPOMÉTRIQUES	100
4.4.2	ÉVALUATION DE LA FONCTION ENDOTHÉLIALE MACROVASCULAIRE	100
4.4.3	ÉVALUATION DE LA FONCTION MICROVASCULAIRE	102
4.4.4	ÉVALUATION DE L'ALIMENTATION HABITUELLE ET DE L'ACTIVITÉ PHYSIQUE HABITUELLE	103
4.4.5	DOSAGES SANGUINS	104
4.4.5.1	GLUCOSE ET INSULINE	104
4.4.5.2	PROFIL LIPIDIQUE	104
4.4.5.3	MARQUEURS D'INFLAMMATION	104
4.4.5.4	MARQUEUR DE STRESS OXYDATIF	105
4.4.5.5	COMPOSITION DES ACIDES GRAS PLASMATIQUES	105
5.	ÉTUDE 1 – FONCTION ENDOTHÉLIALE POSTPRANDIALE ET PROFIL LIPIDIQUE	108
6.	ÉTUDE 2 – REPRODUCTIBILITÉ DE LA SPECTROSCOPIE PROCHE DE L'INFRAROUGE	134
7.	ÉTUDE 3 – FONCTION MICROVASCULAIRE POSTPRANDIALE	157
8.	DISCUSSION GÉNÉRALE	174
8.1.1	LA RELATION ENTRE LA LIPÉMIE ET LA FONCTION ENDOTHÉLIALE	176
8.1.2	RÔLE DE L'INFLAMMATION ET DU STRESS OXYDATIF	178
8.1.3	LA FONCTION MICROVASCULAIRE POSTPRANDIALE	180
8.1.4	INFLUENCE DES HABITUDES ALIMENTAIRES ET DE LA FORME PHYSIQUE	182
8.1.5	RÉSUMÉ SCHÉMATISÉ DES OBSERVATIONS	183
8.1.6	LIMITES	185
9.	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	186
	RÉFÉRENCES	188
	ANNEXES	I

Liste des tableaux

Tableau I. Contenu, structure et rôle des différentes classes de lipoprotéines	15
Tableau II. Critères diagnostiques du syndrome métabolique selon le NCEP ATP III (88)..	36
Tableau III. Composition des deux repas à l'étude.	100

Liste des figures

Figure 1. Illustration schématisée du déroulement de la thèse.	3
Figure 2. Anatomie de la paroi artérielle. Tirée de Ghesquiere 2005 (7)	5
Figure 3. Mécanismes endothéliaux associés aux substances vasoactives principales. Tirée de Hall et al. 2009 (10).	7
Figure 4. Équilibre entre les principaux médiateurs vasoactifs.	7
Figure 5. Principales voies métaboliques des lipoprotéines impliquées dans le transport de lipides endogènes et exogènes. Tirée de Hegele et al. 2009 (69).	18
Figure 6. Dysfonction endothéliale et perméabilisation de l'endothélium dans l'initiation du développement de l'athérome. Tirée de Ross et al. 1999 (71).	20
Figure 7. (À gauche) Formation de cellules spumeuses et activation leucocytaire et plaquettaire durant le stade précoce de développement de l'athérome. (À droite) Accumulation de macrophages et formation d'une capsule fibreuse et d'un noyau nécrotique dans la progression de l'athérome. Tirée de Ross et al. (71).	21
Figure 8. Rupture d'athéromes instable. Tirée de Ross et al. 1999 (71).	22
Figure 9. Causes de mortalité les plus importantes mondialement en 2004. Tirée du rapport sur les Risques de santé globaux de l'Organisation mondiale de la santé, 2009 (1). ..	24
Figure 10. Schématisation de la dysfonction adipocytaire, de la déposition de graisses ectopiques et des altérations métaboliques associées. Tirée de Després et al. 2012 (91).	27
Figure 11. Conséquences métaboliques de l'hyperglycémie. Tirée de Brownlee 2005 (105).	29
Figure 12. Interactions multiples entre les lipoprotéines circulantes et la protéine de transfert de cholestérol estérifié (CETP). Tirée de Minihane et al. 2013 (116).	31
Figure 13. Le « tour de taille hypertriglycéridémique » comme outil diagnostique d'obésité à risque cardiovasculaire élevé. Tirée de Després et al. 2012 (95).	38
Figure 14. Représentation de la diète méditerranéenne. Les aliments se retrouvant à la base de la pyramide doivent être consommés quotidiennement et ceux à la pointe doivent être évités. Modifiée de Middleton (2009) (174).	42
Figure 15. Association entre l'adhésion à la diète méditerranéenne et la mortalité de causes cardiovasculaires. Tirée de Martinez-Gonzalez et al. 2014 (193).	44

Figure 16. Représentation typique de signaux de spectroscopie proche de l'infrarouge durant les périodes d'occlusion artérielle et hyperhémique. Tirée de Lacroix et al. (2012) (251).	103
Figure 17. Schéma explicatif résumant les observations notées suite à la prise du repas riche en acides gras saturés chez les sujets ayant des triglycéridémies à jeun élevés, mais normales.	184

Liste des annexes

Annexe 1. Questionnaire de fréquence alimentaire	i
Annexe 2. Questionnaire d'activité physique habituelle	iv

Abréviations

AGE : Produit de glycation avancé (*Advanced glycation end-product*)

AHA : *American Heart Association*

ALA : Acide alpha-linolénique (*Alpha-linolenic acid*)

Apo : Apolipoprotéine

AVC : Accident vasculaire cérébral

BH₄ : Tétrahydrobioptérine

CRP : Protéine C-réactive (*C-reactive protein*)

DHA : Acide docosahexaénoïque (*Docosahexaenoic acid*)

DTII : Diabète de type II

CETP : Protéine de transfert de cholestérol estérifié (*Cholesterol-ester transfer protein*)

EDHF: Facteur d'hyperpolarisation dérivé de l'endothélium (*Endothelial-derived hyperpolarizing factor*)

EMP: Microparticule endothéliale (*Endothelial microparticle*)

eNOS: Synthase endothéliale de monoxyde d'azote (*endothelial Nitric oxide synthase*)

EPA : Acide eicosapentaénoïque (*Eicosapentaenoic acid*)

ET-1: Endothéline-1

EVOO: Huile d'olive extra-vierge (*Extra-virgin olive oil*)

FBF: Débit sanguin de l'avant-bras (*Forearm blood flow*)

FMD: Vasodilatation induite par le débit sanguin (*Flow-mediated dilatation*)

HDL: Lipoprotéine de haute densité (*High-density lipoprotein*)

HHb: Hémoglobine déoxygénée

hnTG : Triglycéridémie à jeun élevé, mais normale (*high-normal triglyceridemia*)

HSFAM: Repas riche en acides gras saturés (*High-saturated fatty acids meal*)

HTA : Hypertension artérielle

IDL: Lipoprotéine de densité intermédiaire (*Intermediate-density lipoprotein*)

IL-6 : Interleukine-6

IMC: Indice de masse corporelle

IMT: Épaisseur de l'*intima-media* (*Intima-media thickness*)

IR : Résistance à l'insuline (*Insulin resistance*)

LDL: Lipoprotéine de faible densité (*Low-density lipoprotein*)

LDLR: Récepteur de lipoprotéine de faible densité (*Low-density lipoprotein receptor*)

InTG : Triglycéridémie à jeun basse, mais normale (*low-normal triglyceridemia*).

LPL: Lipase de lipoprotéine (*Lipoprotein lipase*)

MetS: Syndrome métabolique (*Metabolic syndrome*)

MMM: Repas méditerranéen complet (*Mixed Mediterranean meal*)

MPO : Myéloperoxydase

MUFA: Acide gras monoinsaturé (*Monounsaturated fatty acid*)

mVO₂: Consommation musculaire d'oxygène

NCEP : *National cholesterol education program*

NIRS: Spectroscopie proche de l'infrarouge (*Near-infrared spectroscopy*)

NMD: Dilatation médiée par la nitroglycérine (*Nitroglycerin mediated dilatation*)

NO: Monoxyde d'azote (*Nitric oxide*)

O₂Hb: Hémoglobine oxygénée

PGI₂ : Prostaglandine I₂

PUFA: Acide gras polyinsaturé (*Polyunsaturated fatty acid*)

ROS : Dérivé réactif de l'oxygène (*Reactive oxygen species*)

SCC : Société canadienne de cardiologie

SFA: Acide gras saturé (*Saturated fatty acid*)

SMC: Cellule musculaire lisse (*Smooth muscle cell*)

tHb: Hémoglobine totale

TNF α : Facteur de nécrose tumorale alpha (*Tumor necrosis factor alpha*)

UPR : *Unfolded protein response*

VLDL: Lipoprotéine de très faible densité (*Very-low density lipoprotein*)

Remerciements

D'abord, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Dr. Anil Nigam, de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet de recherche excitant et de m'avoir permis d'exposer les résultats à de multiples occasions. Merci Anil pour ta disponibilité malgré ton horaire chargé, pour tes conseils et pour ton soutien durant toutes ces années.

À ma codirectrice, Dr. Christine Des Rosiers, pour sa disponibilité, son accueil dans son laboratoire, ses commentaires constructifs et sa bonne humeur. Merci Christine pour tes conseils et pour m'avoir convaincu de poursuivre l'aventure en Europe.

Au Dr. Éric Thorin pour sa vision et ses connaissances variées. Merci Éric pour tes questions toujours pertinentes qui ont fait cheminer ma réflexion.

Au Dr. Martin Juneau pour m'avoir mis en contact avec le Dr. Nigam et m'avoir permis de faire partie de l'équipe du Centre ÉPIC. Merci Martin pour les efforts que tu mets et la foi que tu as envers la prévention. Merci pour ton ouverture et pour les discussions toujours intéressantes que nous avons eues.

Aux membres du jury d'examen de synthèse pour m'avoir poussé à approfondir mes connaissances et avoir encouragé ma curiosité scientifique. Aux membres du jury de thèse pour votre intérêt envers mon travail et pour avoir accepté de le réviser.

À l'équipe du Centre ÉPIC, sans qui ce projet n'aurait jamais été possible. Vous m'avez permis de me lever tous les matins avec le goût d'aller vous rejoindre. Remerciements particuliers à Julie Lalongé, Dr. Mathieu Gayda, Dr. Olivier Dupuy et aux infirmières de recherche. Merci Julie pour ta bonne humeur et ton rire communicatif. Merci Mathieu de m'avoir laissé parfaire mes techniques de barista sur la machine espresso de ton bureau. Merci Mathieu et Olivier pour les soirées gastronomiques que nous avons eues. Merci aux participants de l'étude d'avoir donné de votre temps et de m'avoir prêté votre bras!

À mes amis qui m'ont suivi durant toutes ces années sans me demander trop souvent comment se déroulait mon doctorat et quand j'allais avoir un « vrai » emploi.

À Marie Pier pour ton amour, ta compréhension, ta patience et pour partager mes passions.

À mes parents, qui m'ont transmis le goût pour la science et le plaisir de la bonne alimentation. Merci pour vos encouragements, votre soutien. et votre approbation. Merci maman d'avoir veillé à l'accord de mes participes passés!

Avant-propos

L'incidence de maladies cardiovasculaires croît de façon pandémique à l'échelle mondiale, surpassant maintenant la malnutrition et les maladies infectieuses pour se classer au premier rang des causes de mortalité globale (1-3). Bien que pouvant découler de malformations cardiaques et/ou de mutations génétiques, la majorité de ces maladies cardiovasculaires sont la manifestation de la présence et de la rupture de plaques athérosclérotiques provenant souvent d'habitudes de vie inadéquates. C'est d'ailleurs l'américanisation des habitudes de vie ayant engendré la diminution des dépenses et l'augmentation des apports caloriques quotidiens qui serait en grande partie responsable de l'incidence élevée de ces maladies chroniques. L'alimentation pourrait donc être considérée comme un facteur de risque ou de prévention majeure de maladies cardiovasculaires.

Cette thèse se penchera sur les effets postprandiaux de repas de différentes compositions puisque la période postprandiale, où l'homéostasie vasculaire et métabolique est mise à l'épreuve, est primordiale dans le développement ou la prévention de l'athérosclérose. Notre compréhension de l'impact de la composition de différents repas est donc d'une importance capitale. L'objectif principal de ce projet de recherche est d'évaluer l'impact métabolique et vasculaire d'un repas représentatif de l'alimentation méditerranéenne reconnue pour ses propriétés cardioprotectrices puisque ceci n'a jamais été fait jusqu'à maintenant.

Cette thèse débutera par un survol du cadre théorique dans lequel s'inscrit ce projet de recherche afin de mettre le lecteur en contexte et de réviser certains concepts-clés. Ce survol théorique sera divisé en deux sections qui détailleront respectivement 1) les aspects physiologiques et 2) les aspects nutritionnels entourant le développement de plaques athérosclérotiques et de maladies cardiovasculaires.

Pour mieux comprendre les événements menant à l'apparition de ces plaques, nous décrirons d'abord l'anatomie de la paroi vasculaire et ses principales fonctions. Nous expliquerons ensuite les différentes voies régulant le métabolisme des lipoprotéines puisque celles-ci sembleraient être impliquées dans l'athérogénèse. Ensuite, les processus athérogéniques seront couverts, ainsi que leurs liens avec les différents facteurs de risque

cardiovasculaire. Pour terminer cette première section, nous décrirons les bienfaits que la prévention de l'apparition de ces facteurs de risque peut apporter.

Le survol des aspects nutritionnels débutera par la description de l'impact néfaste de l'alimentation nord-américaine et des bienfaits de l'alimentation méditerranéenne sur la santé cardiométabolique. Par la suite, nous détaillerons la période postprandiale en décrivant la réponse endothéliale à des repas riches en glucides et en acide gras ainsi que le rôle potentiel joué par le stress oxydatif dans cette réponse. Ces éléments seront couverts sous forme d'un article de revue de littérature qui constituera le premier manuscrit de cette thèse.

Suite à ce recensement de la littérature qui nous aura permis de faire ressortir certaines problématiques quant à notre compréhension de la réponse physiologique à des repas de compositions nutritionnelles variables, nous exposerons le projet de recherche qui aura pour objectif d'élucider ces problématiques et qui constitue le cœur de cette thèse. Ceci sera suivi des résultats obtenus sous forme de manuscrits et d'une discussion générale qui reliera ces résultats et tirera les conclusions globales.

Un résumé schématisant le déroulement de cette thèse est proposé à la page suivante.

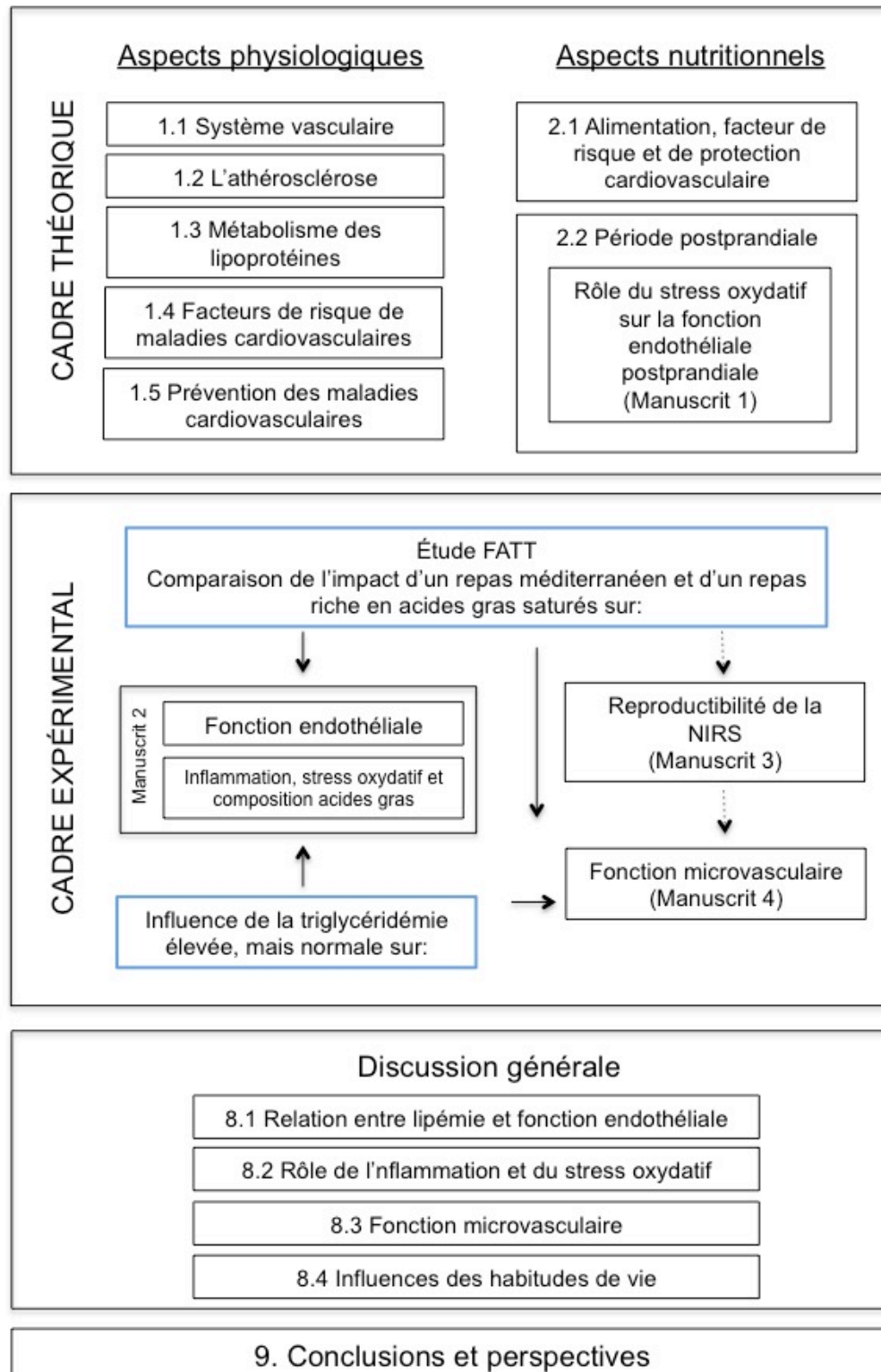


Figure 1. Illustration schématisée du déroulement de la thèse.

CADRE THÉORIQUE

1. Aspects physiologiques

1.1 Le système vasculaire

La section suivante exposera d'abord l'anatomie de la paroi artérielle saine, expliquera l'importance de la fonction endothéliale, décrira les processus pouvant l'altérer et se terminera par une brève énumération de quelques méthodes en permettant l'évaluation.

1.1.1 Anatomie de la paroi artérielle saine

Les artères sont constituées de trois couches cellulaires distinctes : l'*intima*, la *media* et l'*adventice*, chacune d'entre elles étant séparée d'une couche d'élastine (figure 2). L'*intima* est la couche cellulaire délimitant la circulation sanguine de la paroi vasculaire et est composée de cellules endothéliales. De par son emplacement anatomique et ses activités autocrines et paracrines, cette couche cellulaire joue un rôle important dans la régulation du débit et de la pression sanguine, de la coagulation, de l'inflammation, de la prolifération cellulaire et de la distribution tissulaire de nutriments (4, 5). La régulation fine de ces éléments assure l'homéostasie vasculaire. La *média* est composée principalement de cellules musculaires lisses (*Smooth muscle cells*, SMC) et d'élastine et est responsable de la régulation vasoactive du diamètre artériel et conséquemment, du débit sanguin. L'*adventice* est la couche cellulaire formant l'extérieur de la paroi artérielle et est constituée d'élastine, de SMC, de fibroblastes et de collagène. Tout comme l'*intima*, l'*adventice* aurait une influence sur l'homéostasie vasculaire (6).

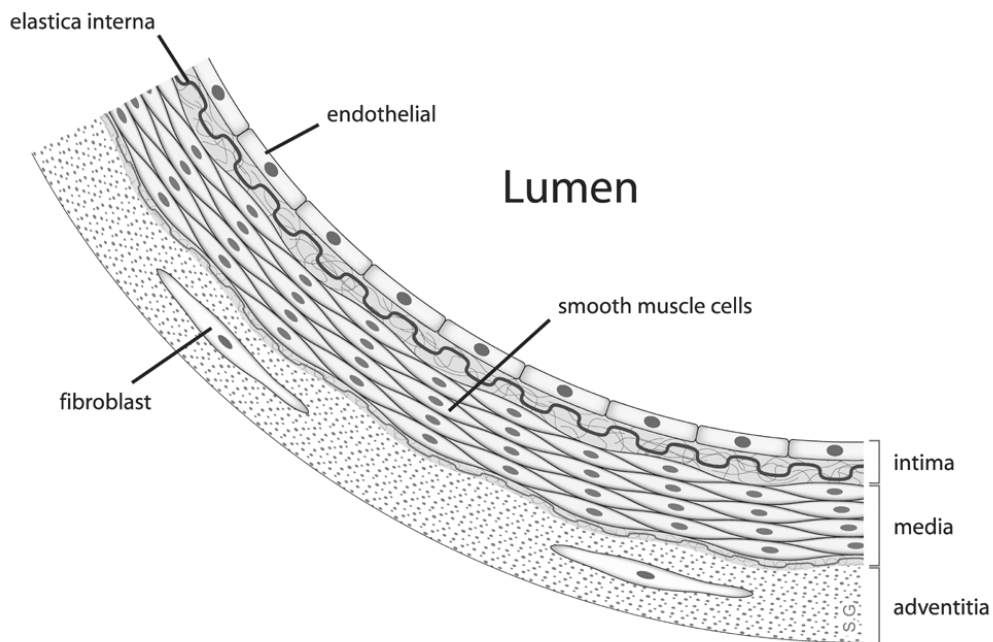


Figure 2. Anatomie de la paroi artérielle. Tirée de Ghesquiere 2005 (7)

1.1.2 La fonction endothéliale

La propriété principale de la paroi vasculaire endothéliale est le maintien du débit sanguin par la régulation et la réponse à des stimuli vasodilatateurs et vasoconstricteurs. Comme l'ont démontré Furchgott et al., les artères ont la capacité de se dilater lorsqu'elles sont stimulées et lorsque la paroi endothéliale est intacte (8). Il a alors été postulé que la stimulation de l'endothélium menait à la sécrétion d'une substance vasodilatatrice nommée « facteur relaxant dérivé de l'endothélium » (*Endothelium-derived relaxing factor*, EDRF). Plus tard, cette substance a été identifiée comme le monoxyde d'azote (*Nitric oxide*, NO), reconnu maintenant comme la principale substance vasodilatatrice sécrétée par l'endothélium (9).

Le NO est produit dans l'endothélium par la synthase endothéliale du NO (*endothelial Nitric oxide synthase*, eNOS) qui utilise le L-arginine comme substrat et la tétrahydrobioptérine (BH_4) comme cofacteur. Deux voies cellulaires peuvent mener à l'activation de la eNOS : 1) la voie Ca^{++} -dépendante qui agit via l'augmentation de calcium intracellulaire induite, entre autres, par l'acétylcholine ou 2) la voie Ca^{++} -indépendante dans laquelle l'insuline ou les

forces de cisaillement sanguines stimulent la eNOS. Une fois sécrété, le NO diffuse facilement vers la *media* pour y activer la synthèse de cGMP par la guanylate cyclase. Le cGMP induit la relaxation des chaînes légères de myosine et mène à une vasodilatation identifiée comme dépendante de l'endothélium (10, 11). En plus de cette propriété vasodilatatrice, le NO inhibe l'adhésion leucocytaire, l'agrégation plaquettaire et la prolifération des SMC vasculaires et joue donc un rôle primordial dans la prévention de l'athérogénèse (processus qui sera détaillé dans la section 1.3.1) (4, 5, 12). L'acétylcholine, la bradykinine, les prostacyclines (principalement la PGI₂) et les facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium (*Endothelium-derived hyperpolarizing factor*, EDHF) comme le peroxyde d'hydrogène et la prostaglandine I₂, ont aussi des propriétés vasodilatatrices (voir figure 3) (5).

À l'opposé de ces agonistes vasodilatateurs, certaines substances comme l'angiotensine II et les dérivés réactifs de l'oxygène (*Reactive oxygen species*, ROS) induisent la formation de vasoconstricteurs telle l'endothéline-1 (ET-1) (voir figure 3). L'ET-1 active aussi des processus inflammatoires et le remodelage des SMC vasculaires associées aux dysfonctions endothéliales. Ces propriétés font donc de l'ET-1 un acteur important dans le processus athérogénique (13).

En situation physiologique, le NO et l'ET-1 sont sécrétés de façon constitutive, interdépendante et sont, avec les autres substances vasoactives, en équilibre pour assurer la régulation de la pression sanguine et des processus inflammatoires, thrombotiques et prolifératifs. L'équilibre entre ces éléments assure donc l'homéostasie vasculaire (voir figure 4)

D'autre part, il existe aussi une vasodilatation indépendante de l'endothélium qui se produit lorsqu'il y a dilatation en réponse à un donneur de NO, comme la nitroglycérine. Ce processus passe donc outre la cellule endothéliale et n'est dépendant que du bon fonctionnement des SMC de la *media*.

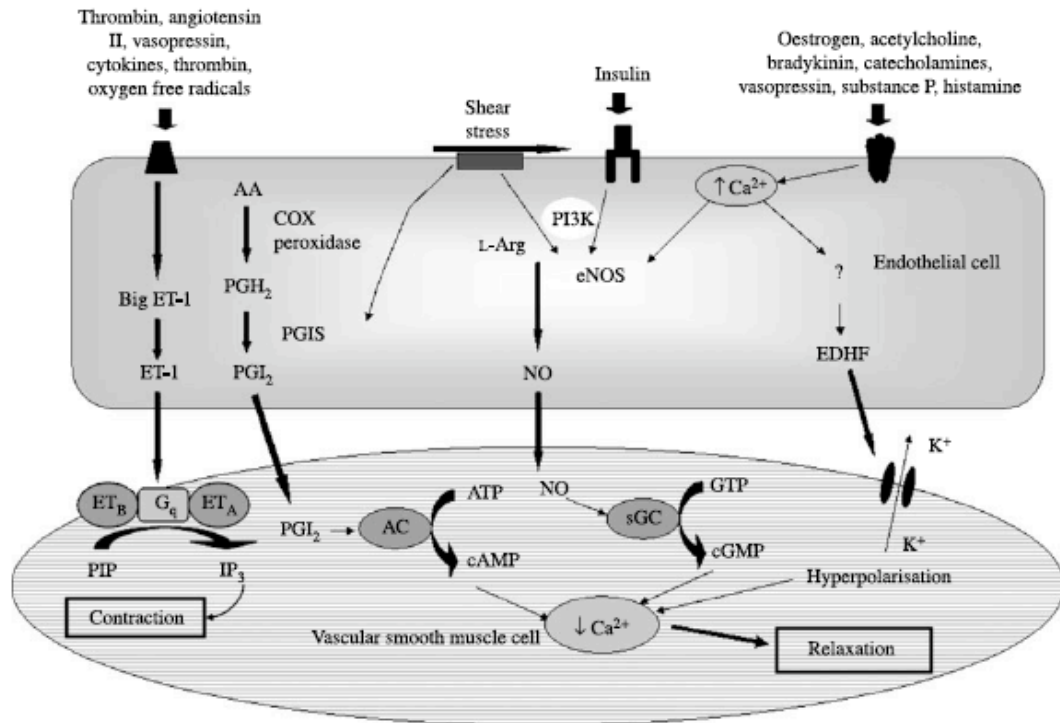


Figure 3. Mécanismes endothéliaux associés aux substances vasoactives principales. Tirée de Hall et al. 2009 (10).

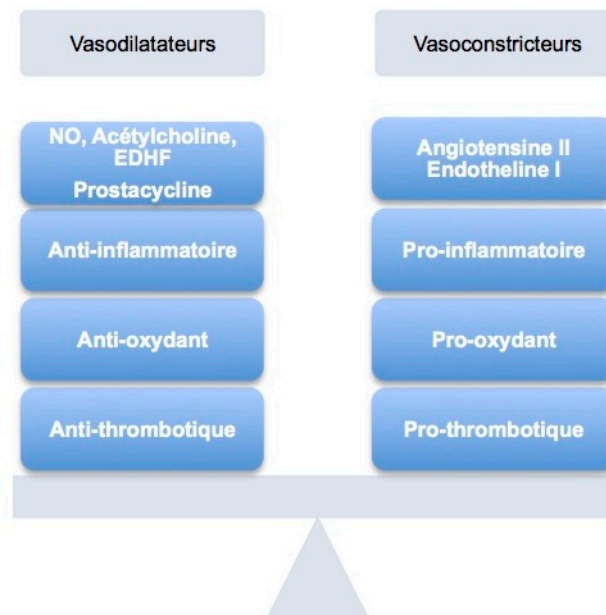


Figure 4. Équilibre entre les principaux médiateurs vasoactifs.

1.1.3 La dysfonction endothéliale

Un débalancement de l'équilibre entre les substances vasoactives au profit d'une augmentation de la charge vasoconstrictrice et/ou d'une diminution de la réponse aux stimuli vasodilatateurs est caractéristique de la dysfonction endothéliale. Ludmer et al. ont été les premiers à identifier cet état en observant la vasoconstriction paradoxale à l'acétylcholine dans des artères coronariennes aux sites correspondant à des athéromes (14). De tels dommages endothéliaux (athéromes) empêchent la stimulation de la eNOS par l'acétylcholine et abolissent donc les propriétés vasodilatatrices associées normalement à cet agoniste vasculaire. Des observations semblables ont aussi été rapportées aux sites correspondant à des lésions précoces, faisant foi de l'implication de la dysfonction endothéliale dans les premières étapes du développement d'athéromes. Plus tard, Anderson et al. ont associé de telles dysfonctions coronariennes à des dysfonctions de l'artère brachiale établissant donc le caractère systémique de la dysfonction endothéliale (15).

Qu'elle soit identifiée au niveau coronarien ou en périphérie, la dysfonction endothéliale est associée aux facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (16-19), elle permet de distinguer le statut cardiométabolique (15, 20, 21) et prédit les événements cardiovasculaires chez des sujets autrement sains (22-24) ainsi que chez des patients déjà atteints de maladies cardiovasculaires (22, 24-26). Cet état, qui relie les facteurs de risque traditionnels et les événements cardiovasculaires, a été identifié comme « facteur de risque ultime » (27).

Le dénominateur commun sous-jacent aux événements menant au débalancement de l'homéostasie vasculaire et à l'atteinte de la vasodilatation dépendante de l'endothélium semble être le stress oxydant. En effet, un surplus de ROS réagira rapidement avec le NO pour former le peroxynitrite (ONOO) diminuant ainsi la biodisponibilité du NO et permettant aux stimuli vasoconstricteurs de prendre le dessus (5, 28). De plus, le peroxynitrite a aussi des propriétés oxydantes, inflammatoires, cytotoxiques et apoptotiques (29, 30). Lorsque sécrété dans un environnement pro-oxydant, le NO (une fois transformé en peroxynitrite) peut donc contribuer à la dysfonction endothéliale (29). Les ROS peuvent aussi affecter la biodisponibilité du NO en oxydant directement la eNOS et/ou son cofacteur (BH₄), entraînant le découplage de la eNOS, diminuant son efficacité de synthèse du NO et la

rendant productrice de ROS (31). En situation de dysfonction endothéliale, la paroi artérielle est donc caractérisée par un état pro-oxydant, pro-inflammatoire et pro-apoptotique qui est propice au développement de l'athérosclérose (4).

Les impacts néfastes de la dysfonction endothéliale sont réversibles par la modification des habitudes de vie (alimentation et activité physique) ou par certains traitements pharmacologiques (hypolipémiants, hypoglycémiant, antihypertenseurs, etc.) puisque ceux-ci améliorent le profil métabolique et diminuent la charge oxydante et inflammatoire (couvert en section 1.5) (4).

1.1.4 Évaluation de la fonction endothéliale

La dysfonction endothéliale est une étape clé qui précède l'apparition d'athéromes et de symptômes cardiovasculaires, son évaluation a une valeur prédictive. La fonction endothéliale peut être étudiée en mesurant la réponse de l'endothélium à l'infusion d'agonistes endothéliaux ou à l'augmentation des forces de cisaillement (débit sanguin).

Fonction macrovasculaire

Les premières méthodes qui seront énumérées ci-dessous sont surtout applicables aux artères de diamètre important et évaluent donc principalement la fonction macrovasculaire.

1.1.4.1 Infusion d'agonistes endothéliaux

L'évaluation angiographique de la vasodilatation coronarienne en réponse à un agoniste endothélial comme l'acétylcholine est la méthode qui a permis à Ludmer et al. de faire les premières observations de la fonction endothéliale. Cette méthode, toujours considérée comme méthode de référence, repose sur l'infusion intra-artérielle (au niveau coronarien ou fémoral habituellement) d'acétylcholine et la comparaison du diamètre artériel post-infusion à celui de base (14). Cette méthode est cependant maintenant délaissée puisqu'elle nécessite la supervision d'un médecin et d'une infirmière, est assez invasive et comporte des risques qui ne peuvent être assumés éthiquement par des volontaires sains dans le cadre d'études cliniques. De plus, l'infusion d'agonistes endothéliaux peut difficilement être répétée dans un court laps de temps dans l'évaluation de processus aigus et ne représente pas une situation physiologique (17).

1.1.4.2 Vasodilatation induite par le débit sanguin

Les méthodes d'évaluation de la fonction endothéliale non-invasives qui sont maintenant préconisées reposent sur l'évaluation du potentiel qu'ont les forces de cisaillement à activer la eNOS et à induire une vasodilatation dépendante de l'endothélium (voir figure 3).

La méthode non-invasive de référence s'appuyant sur ce principe requiert l'application d'une pression supra-systolique au bras ou à la jambe pour ainsi engendrer une ischémie des tissus en aval du site d'occlusion. La détente de l'occlusion cause une augmentation du débit sanguin ayant pour objectif de rétablir l'oxygénation de la zone ischémique. Ce phénomène est défini comme hyperhémie réactive. Dans une artère saine, cette hyperhémie réactive induira une vasodilatation. La mesure par échographie du diamètre artériel hyperhémique maximal et la comparaison à celui au repos permet d'évaluer de façon reproductible la capacité maximale de vasodilatation induite par le débit sanguin (*Flow-mediated dilatation*, FMD) (17, 32-34).

Une FMD normale, définie par la médiane ou par le tertile le plus élevé d'une population sans symptômes cardiovasculaires, se situe souvent entre 7.5% et 11% et est associée à un pronostic cardiovasculaire favorable (32, 35, 36). La FMD permet de distinguer les sujets sains de ceux à haut risque cardiovasculaire ou déjà atteints de maladies cardiovasculaires (19, 32, 34). De plus, l'ajout du FMD à la classification de risque cardiovasculaire de Framingham en précise l'évaluation du risque (37) et permet la prédiction des événements cardiovasculaires futurs chez des sujets sains (23) et la récurrence de ceux-ci chez des patients déjà atteints (38).

La mesure du FMD offre plusieurs avantages dont sa simplicité, son caractère non-invasif et la possibilité d'être répétée sur un court laps de temps pour suivre l'évolution de la fonction endothéliale suivant une intervention (aigüe).

1.1.4.3 Débit sanguin hyperhémique

La méthodologie permettant la mesure du FMD permet aussi de mesurer le débit sanguin hyperhémique maximal et de comparer celui-ci au débit sanguin au repos (*Forearm blood flow*, FBF). La comparaison du FBF d'un sujet donné par rapport à la médiane ou le tertile supérieur d'une population saine permet de prédire la probabilité d'événements

cardiovasculaires futurs (39). Le FBF est inversement associé à certains facteurs de risque cardiovasculaire comme l'âge, le tabagisme et le diabète (40, 41).

Dernièrement, l'aire sous la courbe du débit sanguin durant les premiers battements cardiaques post-ischémiques (*Velocity-time integral*, VTI) a aussi été proposé comme marqueur de fonction vasculaire associé aux événements cardiovasculaires futurs chez des sujets à faible risque cardiovasculaire (42).

Fonction microvasculaire

La microvasculature, qui fait référence aux vaisseaux de résistance tels les artérioles, les capillaires et les veinules, joue aussi un rôle important dans l'hyperhémie réactive et donc dans la vasodilatation macrovasculaire. En effet, pour qu'il y ait hyperhémie réactive au niveau macrovasculaire, il faut d'abord que le réseau microvasculaire de la région ischémique puisse accepter l'augmentation du débit et du volume sanguin (43). Pour ce faire, les vaisseaux microvasculaires devront d'abord se dilater (recrutement capillaire fonctionnel), dilatation qui se fait principalement sous l'action de l'insuline.

Des dysfonctions du réseau microvasculaire ont des répercussions importantes car celui-ci représente 98% de la surface vasculaire corporelle totale et est impliqué dans plusieurs processus physiologiques. Par exemple, le recrutement capillaire serait impliqué dans la captation musculaire de nutriments (notamment de glucose) et son dysfonctionnement serait à l'origine et pourrait prédire la résistance à l'insuline (*Insulin resistance*, IR), le diabète de type II (DTII) et l'hypertension artérielle (HTA) qui seront couverts à la section 1.4 (44).

Les méthodes de mesure de la fonction macrovasculaire détaillées précédemment évaluent aussi indirectement la fonction microvasculaire, mais il existe quelques méthodes d'évaluation propres à la microcirculation qui seront détaillées dans les sections suivantes.

1.1.4.4 Pléthysmographie périphérique

L'augmentation du débit sanguin brachial post-ischémique engendre une augmentation à peine perceptible du volume sanguin pulsé au bout des doigts. La mesure du volume hyperhémique maximal par pléthysmographie et la comparaison de celui-ci avec le volume d'un doigt controlatéral reflète la capacité hyperhémique maximale des artérioles brachiales (*Peripheral arterial tonometry index*, Index PAT) (17). De façon intéressante, l'index PAT est

modérément corrélé avec la FMD chez des sujets sains (45) et permet la prédiction d'évènements cardiovasculaires futurs (17). L'index PAT est cependant faiblement associé aux facteurs de risque cardiovasculaire traditionnels (16, 46) et à la fonction microvasculaire coronarienne et ne peut détecter de changements aigus de la fonction vasculaire (47).

1.1.4.5 Thermométrie périphérique

L'augmentation du volume sanguin du bout des doigts induit l'augmentation de leur température. La thermométrie peut être utilisée pour mesurer cette augmentation et ainsi évaluer indirectement la vasodilatation des capillaires périphériques. La température hyperhémique du bout des doigts est ainsi associée aux facteurs de risque cardiovasculaire et est diminuée lorsqu'il y a présence de maladies coronariennes (48).

1.1.4.6 Spectroscopie proche de l'infrarouge

Un autre moyen d'évaluer l'augmentation du débit sanguin hyperhémique est par la spectroscopie proche de l'infrarouge (*Near-infrared spectroscopy*, NIRS). Cette technique repose sur l'application d'optodes musculaires (souvent sur le muscle *brachioradialis*) qui distinguent entre l'hémoglobine oxygénée (O_2Hb) et celle déoxygénée (HHb) et permet par addition, l'obtention de l'hémoglobine totale (tHb) (49). L'analyse des cinétiques de ces trois classes d'hémoglobine permet l'évaluation de la consommation musculaire d'oxygène durant l'occlusion (mVO_2) ainsi que l'évaluation des cinétiques et des capacités maximales de reperfusion post-ischémique de l' O_2Hb et le tHb.

Les cinétiques de reperfusion post-ischémique d' O_2Hb et de tHb évaluées par la NIRS à la jambe distinguent les sujets avec des atteintes microvasculaires périphériques de ceux sans atteintes (50). De plus, certains paramètres NIRS distinguent les différents niveaux de risque cardiovasculaire et sont affectés par le nombre de facteurs de risque présents (51). Par exemple, la NIRS a permis de constater que le mVO_2 est influencé rapidement par la prise d'une cigarette (52) et que la reperfusion d' O_2Hb est améliorée par trois mois d'entraînement chez des insuffisants cardiaques (53).

1.1.4.7 Marqueurs endothéliaux circulants

La quantification de marqueurs circulants provenant de la paroi vasculaire ou interagissant avec celle-ci permet aussi d'évaluer l'intégrité vasculaire et la fonction endothéliale. Par exemple, il est possible de quantifier les niveaux de différentes substances vasoactives

comme le NO (ou L-arginine) ou autres EDHF et l'ET-1, des inhibiteurs de la eNOS comme le diméthylarginine asymétrique ou plus directement l'activité de la eNOS (4). Par exemple, une activation de la eNOS indique une amélioration de la fonction endothéliale tandis qu'une élévation des niveaux de diméthylarginine asymétrique est associée à la diminution de la vasodilatation artérielle (54, 55). Les microparticules endothéliales (*Endothelial microparticle*, EMP), libérées suite à l'activation, à l'apoptose ou à des dommages endothéliaux, peuvent aussi permettre l'observation de l'intégrité des parois vasculaires. Par exemple, des niveaux élevés d'EMP sont associés à la dysfonction endothéliale et aux pathologies cardiovasculaires (56). L'homéostasie endothéliale peut aussi être inférée par la quantification de médiateurs inflammatoires, oxydatifs et thrombotiques puisque ceux-ci influencent l'équilibre entre les stimuli vasoactifs. La mesure de substances pro-inflammatoires tels l'IL-6, la e-sélectine, le TNF α ou les molécules d'adhésion cellulaire (ICAM et VCAM), d'enzymes pro-oxydantes telles la NADPH oxydase ou la myéloperoxydase (MPO) ou de facteurs thrombotiques tels le facteur de von Willebrand, le fibrinogène et l'activateur tissulaire du plasminogène permet donc aussi l'évaluation indirecte de la fonction endothéliale (4, 57).

En résumé,

La fonction principale de l'endothélium est d'assurer le maintien d'un débit sanguin adéquat et de réguler les processus inflammatoires, thrombotiques et prolifératifs. Ces éléments dépendent d'un équilibre homéostatique entre les stimuli vasoactifs et un débalancement de celui-ci engendre des dysfonctions endothéliales, facteur de risque ultime de développement d'athérosclérose et de maladies cardiovasculaires.

L'évaluation de la réponse endothéliale aux stimuli vasoactifs permet donc la prédiction du risque cardiovasculaire futur.

1.2 Métabolisme des lipoprotéines

La section suivante fera un survol du métabolisme des lipoprotéines qui nous permettra par la suite de mieux comprendre les processus athérogéniques puisqu'un dérèglement du contrôle de ces lipoprotéines semble être impliqué dans l'athérogénèse.

1.2.1 Contenu, structure et rôle des lipoprotéines

Les lipoprotéines représentent une famille de macromolécules circulantes qui sont constituées de protéines et de phospholipides et qui ont comme rôle le transport de molécules hydrophobes (des triglycérides et du cholestérol principalement) qui seraient autrement insolubles dans le sang. On distingue cinq grandes classes de lipoprotéines : les lipoprotéines de très petite densité (*very-low density lipoproteins*, VLDL), les lipoprotéines de densité intermédiaire (*intermediate-density lipoproteins*, IDL), les lipoprotéines de petite densité (*low-density lipoproteins*, LDL), les lipoprotéines de haute densité (*high-density lipoproteins*, HDL) et les chylomicrons (58). Ces classes de lipoprotéines diffèrent par leur composition en apolipoprotéines (Apo) et par leur contenu en cholestérol et en triglycérides, ce qui leur confère des rôles distincts (résumés dans le tableau I).

Les VLDL, les IDL, les LDL et les HDL participent au transport endogène des triglycérides et du cholestérol. Les VLDL, les IDL (qui dérivent des VLDL) et les LDL ont comme rôle le transport des triglycérides et du cholestérol hépatique vers les tissus périphériques tandis que les HDL sont responsables du transport inverse du cholestérol des tissus périphériques vers le foie (58, 59).

Pour leur part, les chylomicrons sont sécrétés par l'intestin et participent au transport des triglycérides et du cholestérol exogène provenant de l'alimentation. Les chylomicrons, dont la concentration augmente de façon importante suivant un repas, transportent les lipides alimentaires de l'intestin vers les tissus périphériques (adipeux et musculaires) et ultimement vers le foie (résidus de chylomicrons) (58, 59) (voir figure 5).

Tableau I. Contenu, structure et rôle des différentes classes de lipoprotéines

	Contenu en triglycérides (%)	Contenu en cholestérol (%)	Type d'apolipoprotéines	Rôle principal
Chylomicrons	80-95	2-7	ApoB48, AI, AV et AIV	Transport des triglycérides exogènes
VLDL	55-80	5-15	ApoB100, C et E	Transport des triglycérides endogènes
IDL	20-50	20-40	ApoB100 et E	
LDL	5-15	40-50	ApoB100	Transport du cholestérol endogène
HDL	5-10	15-25	ApoAI, AII et E	Transport inverse du cholestérol

1.2.2 Transport des lipides endogènes

Le transport endogène des lipides est principalement actif en période de jeûne, définie comme étant la période post-absorptive où le ratio insuline : glucagon est diminué (58). En période de jeûne prolongé, le glucose et le glycogène seront mobilisés et utilisés en priorité par les organes majoritairement glucose-dépendant comme le cerveau tandis que d'autres organes comme les muscles utiliseront les acides gras pour produire l'énergie cellulaire nécessaire à leur fonctionnement. Pour combler les besoins de ces organes, le tissu adipeux sécrètera des acides gras suite à la lipolyse de triglycérides par la lipase de triglycéride du tissu adipeux (activée par la présence de glucocorticoïdes), la lipase hormono-sensible (activée en absence d'insuline et en présence de catécholamines) et la lipase de monoglycéride (60). Ces acides gras libres se lieront pour la plupart à l'albumine en circulation et iront au foie pour alimenter la gluconéogenèse et la céto-genèse (61, 62). En période de jeûne, des VLDL riches en triglycérides seront aussi sécrétées par le foie. Une fois en circulation, ces VLDL interagiront avec des récepteurs VLDL (CD36) présents sur les parois capillaires musculaires et relâcheront une partie de leur contenu sous l'action de lipases de lipoprotéine (LPL), activées par le glucagon (63). Les acides gras ainsi libérés seront rapidement captés par la protéine stimulatrice d'acylation (*Acylation-stimulating protein*) et absorbés par le muscle et utilisés pour la production d'énergie. Ce faisant, le contenu en triglycérides et la densité des VLDL diminueront progressivement pour atteindre

la densité des IDL. À leur tour, les IDL interagiront avec des récepteurs musculaires aux VLDL et délivreront une partie de leur contenu via l'action de la LPL (64). Petit à petit, ces IDL perdront la majorité de leurs triglycérides et leur ApoE pour devenir des LDL (riches en cholestérol et formées exclusivement d'apoB100). Ce cycle se complètera avec l'internalisation des LDL dans les parois vasculaires (étape importante de la formation de plaques athérosclérotiques, discutée dans la section 1.3.1) ou au foie (avec une partie des IDL) par la liaison des ApoB100 aux récepteurs aux LDL (LDLR) (58, 59).

Pour leur part, les HDL sont responsables du transport inverse du cholestérol c'est-à-dire du transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. Cette voie est dépendante de l'interaction entre l'ApoA1 des HDL avec les récepteurs ABCG1, ABCA1 ou SR-B1 des macrophages présents dans les parois vasculaires. Le cholestérol ainsi capté par les HDL sera estérifié (par la *Lecithin-cholesterol acyltransferase*, LCAT) et transporté vers le foie (via le récepteur SR-B1) pour excrétion par les voies biliaires. La participation des HDL à la diminution du contenu en cholestérol des parois vasculaires est l'une des propriétés cardioprotectrices importantes des HDL (voir section 1.4.3.3). Du cholestérol transporté par les HDL sera aussi échangé avec les LDL (via la protéine de transfert de cholestérol estérifié [*Cholesterol-ester transfer protein*, CETP]) en retour de triglycéride (65).

1.2.3 Transport des lipides exogènes

Le transport des lipides provenant du tube digestif est actif en période postprandiale, définie comme étant la période hyperinsulinémique associée à l'apparition d'une quantité importante de glucose et de chylomicrons dans le sang (64). Les chylomicrons, assemblés et sécrétés par l'intestin, sont constitués principalement d'ApoB48 et leur contenu est représentatif de la composition lipidique du repas ingéré. Une fois en circulation, les chylomicrons acquièrent l'ApoE et l'ApoC (nécessaires pour l'interaction avec les LPL) suite à des échanges avec les HDL. Les chylomicrons libèreront leur contenu au niveau musculaire et adipeux via leur interaction avec les récepteurs CD36 et les LPL des capillaires périphériques (61, 66). Il est à noter qu'une activation postprandiale des LPL des tissus adipeux favorise la déposition et l'entreposage de lipides dans ce tissu (63). Suite à leur interaction avec ces lipases, les résidus de chylomicrons seront internalisés au foie via les récepteurs à l'ApoB48 ou les protéines reliées aux LDLR (LRP1) suivant l'interaction avec l'ApoB48 et l'ApoE (59, 64).

En période postprandiale, la présence d'insuline et la diminution de glucocorticoïdes et de catécholamines inhibent la lipase de triglycéride du tissu adipeux et la lipase hormono-sensible ce qui a pour effet de diminuer la lipolyse adipeuse et de diminuer la sécrétion hépatique de VLDL. Ceci diminue la compétition entre les VLDL et les chylomicrons et favorise ainsi la clairance de ces derniers (61, 62, 67). Le cycle de transport inverse du cholestérol est aussi diminué puisque l'efflux de cholestérol des tissus périphériques est ralenti par l'insuline (inhibition de l'ABCG1) (68).

La clairance des lipoprotéines plasmatiques riches en triglycérides est affectée par plusieurs facteurs tels la présence et l'activité des lipases (LPL et lipase hépatique) et de récepteurs (LDLR, LRP1 et CD36) pour ces lipoprotéines, la composition en apolipoprotéines et le contenu en acides gras de celles-ci et la compétition entre les différentes lipoprotéines circulantes. Ces facteurs peuvent être affectés par certaines modifications génétiques (qui ne seront pas discutées ici), certains paramètres métaboliques dont l'adiposité, la sensibilité à l'insuline, le profil lipidique et l'alimentation (discutés en section 1.4 et 2.0 respectivement).

En résumé,

La figure ci-dessous regroupe les concepts discutés précédemment de façon schématique.

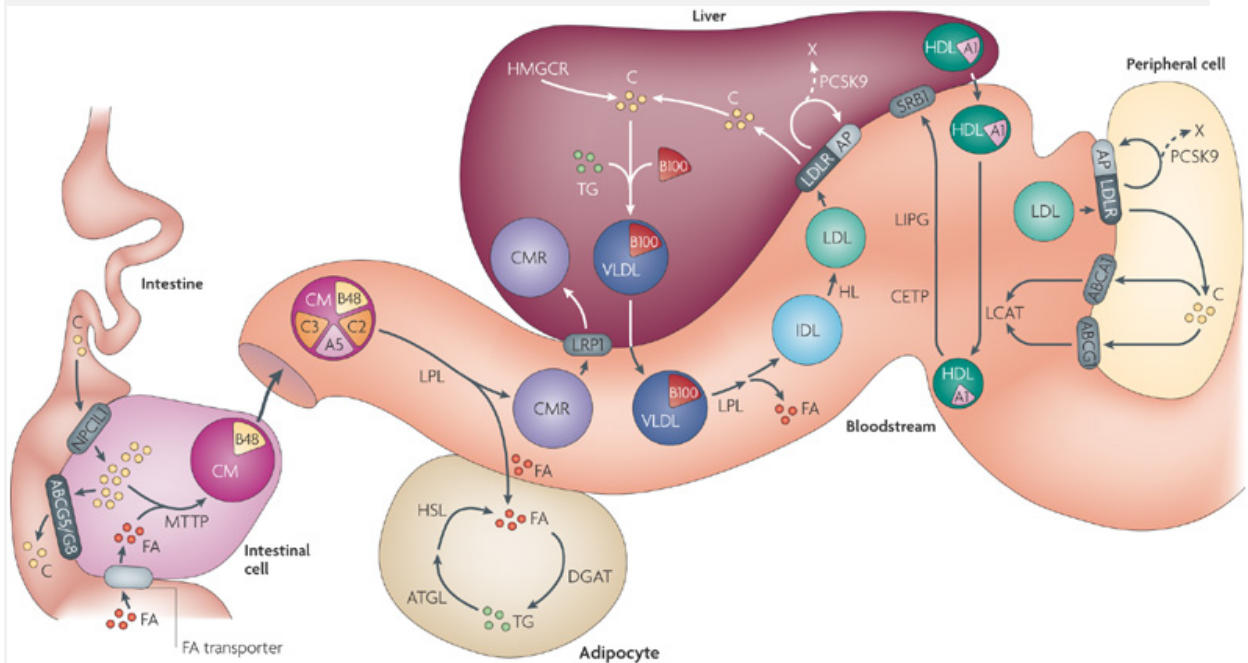


Figure 5. Principales voies métaboliques des lipoprotéines impliquées dans le transport de lipides endogènes et exogènes. Tirée de Hegele et al. 2009 (69).

ATGL : lipase de triglycéride du tissu adipeux (*adipose triglyceride lipase*), C : cholestérol, CM : chylomicron, CMR : résidu de chylomicron (*chylomicron remnant*), DGAT : diacylglycerol acyltransferase, FA : acide gras (*fatty acids*), HSL lipase hormono-sensible (*hormone-sensitive lipase*)

1.3 L'athérosclérose

La compréhension des mécanismes liés à la formation d'athéromes a beaucoup évolué depuis les premières observations de lésions artérielles et de stries lipidiques par Virchow en 1858. Plus qu'une simple accumulation de cholestérol dans la paroi artérielle, l'athérosclérose est maintenant vue comme une maladie aux causes multiples qui ont des processus inflammatoires comme base commune (70, 71). Les sections suivantes détailleront les mécanismes associés à la formation d'athéromes ainsi que les événements menant à leur rupture et aux événements cardiovasculaires.

1.3.1 Développement de l'athérome

Il existe quelques visions complémentaires des mécanismes menant à la formation de lésions athérosclérotiques. Une de celles-ci, identifiée comme la « réponse à la blessure », veut qu'un réarrangement cellulaire induit par un dommage vasculaire soit le déclencheur du processus athérogénique. Ce réarrangement de la paroi vasculaire engendrerait un déséquilibre de l'homéostasie vasculaire qui ferait en sorte d'activer l'endothélium facilitant ainsi l'infiltration monocyttaire, l'adhésion et l'activation leucocytaire et favorisant la coagulation (figure 6). Des facteurs affectant la fonction endothéliale (comme ceux associés aux maladies cardiovasculaires) seraient donc des déclencheurs de la cascade athérogénique (6). Comme vu précédemment, la dysfonction endothéliale est en effet déjà présente au stade précoce de l'athérosclérose et est considérée comme importante à son développement (5).

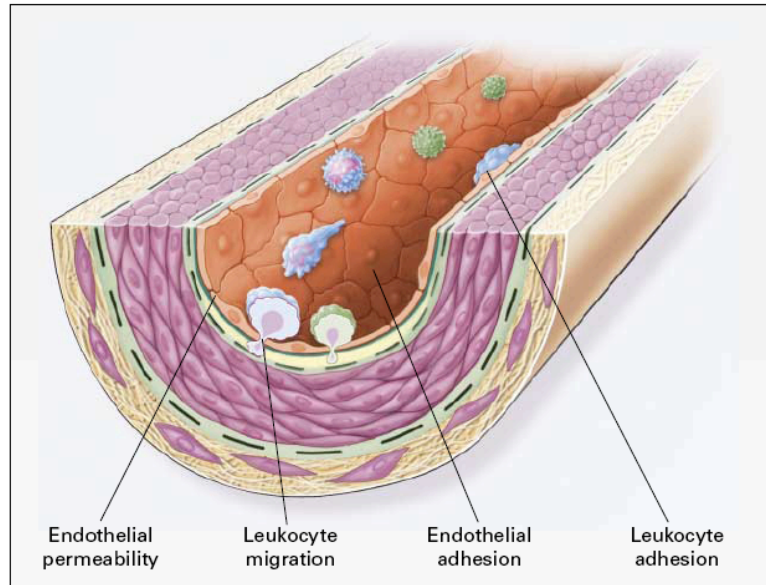


Figure 6. Dysfonction endothéliale et perméabilisation de l'endothélium dans l'initiation du développement de l'athérome. Tirée de Ross et al. 1999 (71).

Qu'il y ait dommage endothélial ou non, il semble aussi que l'internalisation dans l'espace endothélial de LDL serait une étape clé du développement de l'athérome selon l'hypothèse de la « réponse à la rétention » (72-74). En effet, l'internalisation et la rétention des LDL, des VLDL et des Lipoprotéines (a) suivant l'interaction de l'ApoB100 (ou de l'ApoB48 des résidus de chylomicrons) avec les protéoglycans endothéliaux semble être indispensables à la formation d'athéromes (6, 75, 76). Une fois internalisées, ces lipoprotéines engendreront une réponse immunitaire par l'attraction de monocytes, de neutrophiles et de lymphocytes T puis seront reconnues par les macrophages et formeront des cellules spumeuses, caractéristique principale du stade précoce de l'athérosclérose (figure 7) (6, 71). Ces événements démontrent donc le caractère auto-immun de l'athérosclérose (« hypothèse immunologique de l'athérosclérose ») (77). De plus, les LDL de petite densité (sdLDL) et celles ayant subi des modifications oxydatives (oxLDL), qui augmentent leur affinité pour les protéoglycans, seront plus facilement internalisées et retenues dans l'espace sous-endothélial (« hypothèse de modification oxydative ») (6).

Ces dernières hypothèses sont aussi compatibles avec l'hypothèse de « réponse à la blessure » puisque la présence de telles lipoprotéines induira des dommages et l'activation endothéliale pro-athérogénique (73).

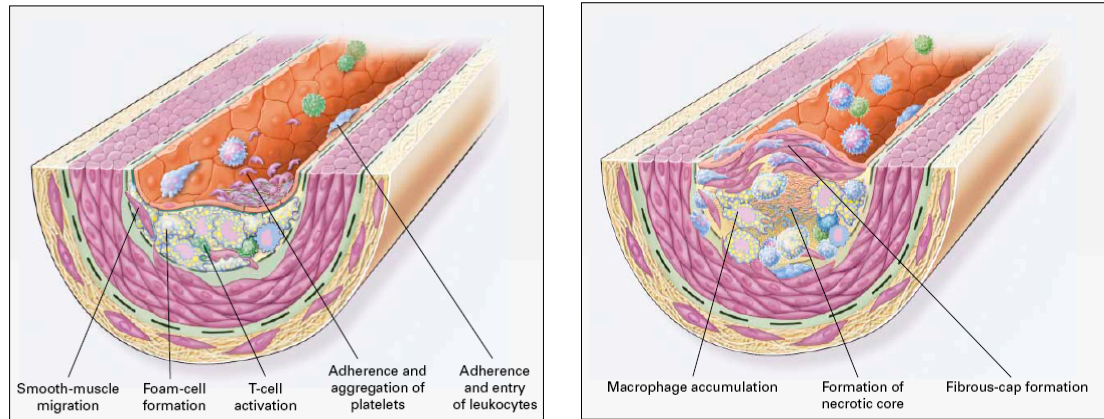


Figure 7. (À gauche) Formation de cellules spumeuses et activation leucocytaire et plaquettaire durant le stade précoce de développement de l'athérome. (À droite) Accumulation de macrophages et formation d'une capsule fibreuse et d'un noyau nécrotique dans la progression de l'athérome. Tirée de Ross et al. (71).

La réponse inflammatoire, commune à tous ces processus, a pour objectif de neutraliser les éléments identifiés par l'organisme comme étant nocifs (i.e. dommage de la paroi vasculaire, infiltration de lipoprotéines). L'inflammation s'établira de façon chronique si elle ne réussit pas à enrayer ces éléments ou si des dommages vasculaires reviennent à répétition (78). L'inflammation chronique mènera aux stades intermédiaire et avancé de l'athérosclérose en induisant la migration et la prolifération de SMC de la media vers l'intima, résultant en l'épaississement de la paroi artérielle (*intima-media* thickness, IMT) et à la formation d'une capsule fibreuse sur la lésion. Une augmentation de l'IMT est d'ailleurs un marqueur intermédiaire de la présence d'athéromes. L'inflammation chronique poussera aussi les macrophages à entrer en processus de mort cellulaire programmée et à former un noyau nécrotique caractéristique de lésions avancées (figure 7) (71). Il est aussi postulé que l'inflammation activera des processus de réparation tissulaire produisant à leur tour des dérivés oxygénés (« hypothèse de la réponse oxydative à l'inflammation ») (6).

1.3.2 Rupture de plaques et événements cardiovasculaires

Contrairement à la conception populaire, la majorité des événements cardiovasculaires résultent de la rupture de plaques athéromateuses instables et non de la diminution graduelle du débit sanguin dans une artère conductrice par une plaque obstructive (79). Des plaques instables sont caractérisées par une capsule fibreuse mince,

un noyau nécrotique et lipidique important, un niveau d'inflammation élevé, un remodelage vasculaire positif et des hémorragies de la plaque (80). L'augmentation des forces de cisaillement (causée par l'hypertension artérielle ou l'effort physique par exemple) ou l'activation des métalloprotéinases de la plaque par les lymphocytes T et les cytokines inflammatoires peuvent en provoquer la rupture (figure 8) (80). Au moment de la rupture, l'entrée dans la circulation des éléments pro-thrombotiques et inflammatoires constituant la plaque entraînera la formation d'un caillot qui pourra ensuite diminuer plus ou moins complètement l'apport sanguin tissulaire. La rupture d'athéromes et la formation de thrombus engendrent des pathologies propres aux sites anatomiques touchés par l'ischémie.

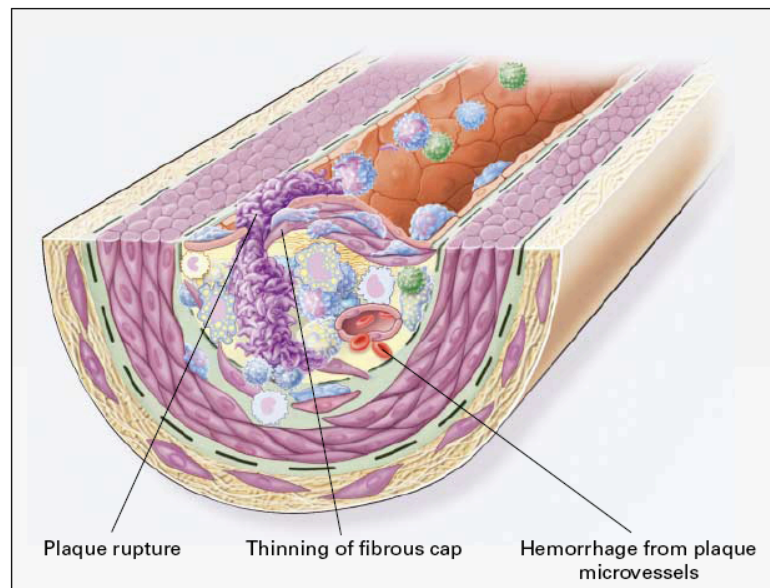


Figure 8. Rupture d'athéromes instable. Tirée de Ross et al. 1999 (71).

Par exemple, la présence de plaques non-obstructives dans une ou plusieurs des artères coronaires entraîne la diminution du débit sanguin et de l'apport en oxygène au myocarde et est associée aux syndromes ischémiques stables comme l'angine d'effort (lorsque l'obstruction est de l'ordre de 60-70% du diamètre original). Pour sa part, la rupture d'un athérome coronarien entraînera l'ischémie d'une partie du myocarde et mènera au syndrome coronarien aigu (infarctus du myocarde ou angine instable) (81). La maladie coronarienne est la manifestation cardiovasculaire la plus fréquemment observée et celle causant le plus de mortalité cardiovasculaire mondialement (82). Pour sa part, la rupture de plaques menant à des ischémies cérébrales est associée aux accidents vasculaires

cérébraux (AVC) tandis que l'athérosclérose des artères des membres mène aux maladies artérielles périphériques.

En résumé,

L'athérosclérose n'est donc pas qu'une simple accumulation de cholestérol dans la paroi artérielle, mais est aussi la manifestation de déséquilibres endothéliaux et de niveaux élevés d'inflammation chronique. Des niveaux d'inflammation élevés contribuent aussi à l'instabilité et à la rupture de plaques athérosclérotiques, élément déclencheur d'une majorité d'événements cardiovasculaires.

Les atteintes de causes multiples qui favorisent le développement d'athéromes sont regroupées et identifiées comme facteurs de risque cardiovasculaire et seront exposées dans la section suivante.

1.4 Facteurs de risque de maladies cardiovasculaires

Puisque la manifestation de la plupart des événements cardiovasculaires est soudaine et asymptomatique, l'identification de facteurs prédisposant aux événements de ce genre est importante. L'augmentation de la morbidité et la mortalité d'origine cardiovasculaire dans le dernier siècle a mené plusieurs groupes à s'intéresser à ces facteurs. L'étude de Framingham a identifié le sexe masculin, le vieillissement et l'historique familial de maladies cardiovasculaires comme des facteurs augmentant les risques. De plus, l'embonpoint et l'obésité, l'hyperglycémie et le diabète, l'hypercholestérolémie, l'hypertension, l'inactivité physique et le tabagisme ont été identifiés comme des facteurs de risque modifiables. Ces paramètres peuvent être utilisés dans des algorithmes de calcul du risque d'événements cardiovasculaires sur 10 ans (83) ou 30 ans (84). Mondialement, ces facteurs constituent les causes de mortalité les plus importantes (figure 9) (1).

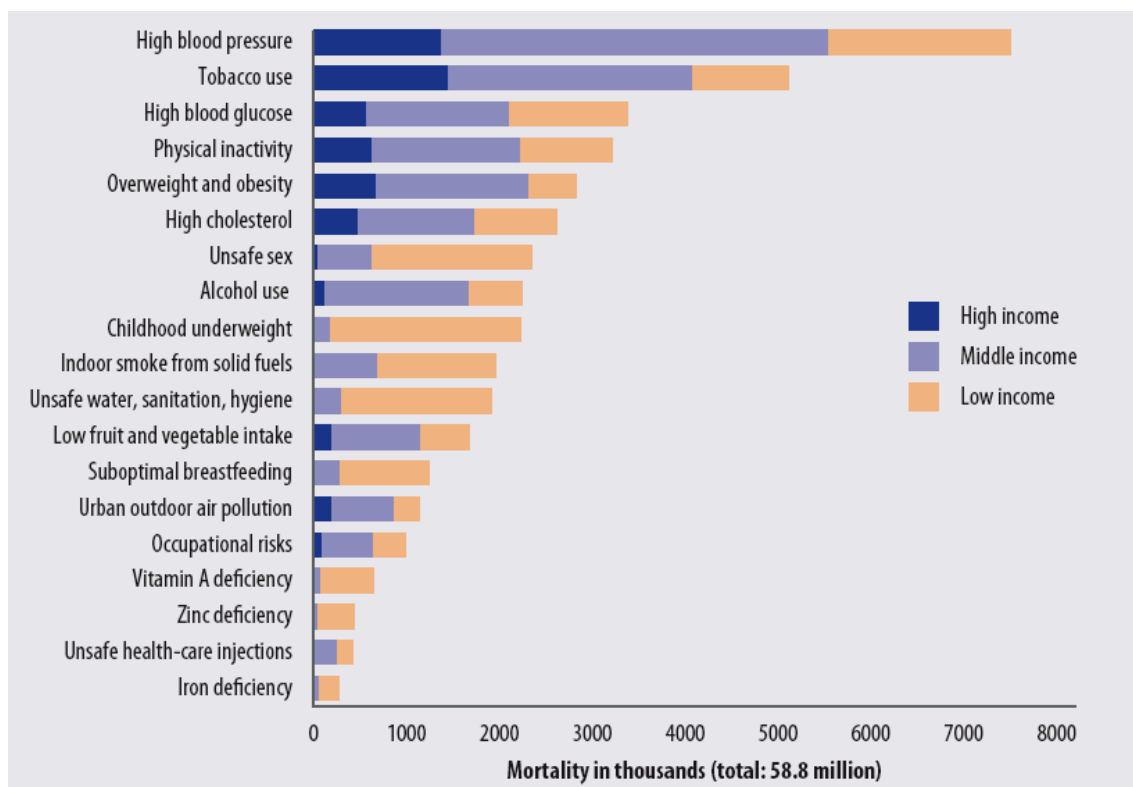


Figure 9. Causes de mortalité les plus importantes mondialement en 2004. Tirée du rapport sur les Risques de santé globaux de l'Organisation mondiale de la santé, 2009 (1).

La section suivante décrira brièvement l'incidence et la pathophysiologie des différents facteurs de risque modifiables identifiés par Framingham et fera le lien entre ceux-ci et les processus inflammatoires et oxydatifs, l'altération de la fonction endothéliale et le développement de l'athérosclérose.

1.4.1 Obésité

La problématique de surplus de masse adipeuse croît de façon alarmante et menace la plupart des pays développés et, depuis peu, ceux en voie de développement. Différents degrés de surplus adipeux sont catégorisés traditionnellement par la mesure de l'indice de masse corporelle (IMC), qui se calcule à partir du poids (en kilogrammes) divisé par la taille (en mètre) au carré. L'embonpoint se définit par un IMC supérieur à 25 kg/m², l'obésité par un ICM supérieur à 30 kg/m² et l'obésité morbide par un ICM supérieur à 35 kg/m² (85). L'embonpoint touche environ le tiers de la population adulte mondiale tandis que 10% (dont plus du tiers des adultes américains) souffre d'obésité (85, 86). Ces conditions augmentent l'incidence de plusieurs comorbidités tels le DTII, l'hypertension, l'hypercholestérolémie, les maladies coronariennes, certains cancers et augmentent les risques de mortalité (87, 88).

Généralement, il est accepté qu'un surplus de masse adipeuse découle d'un déséquilibre entre l'énergie consommée et celle dépensée, ce qui engendre l'entreposage de ces surplus sous forme de graisses. Il est à noter qu'une vision plus complexe et plus juste de l'obésité veut que certains aliments comme ceux riches en fructose ou l'alcool favoriseraient davantage la formation de tissus graisseux. En ce sens, toutes les calories ne sont pas égales. Ce concept est cependant hors de la portée de cette thèse, mais est très bien couvert par Lustig et al. et Wells et al. (89, 90).

Le tissu adipeux peut être sous-divisé en deux catégories aux propriétés cardiométaboliques bien différentes : le tissu adipeux viscéral et le tissu sous-cutané. Ce dernier représente le site principal d'entreposage d'acides gras provenant de l'alimentation en période postprandiale et de distribution d'acides gras libres en situation de jeûne. Certains facteurs génétiques et environnementaux peuvent faire en sorte que les adipocytes sous-cutanés soient incapables d'hypertrophier suffisamment en situation de surplus énergétiques chroniques pour combler les besoins d'entreposage. Dans de telles

situations, les acides gras en surplus s'écouleraient en circulation (*spillover*) et seraient entreposés par le tissu adipeux viscéral et/ou dans des sites extra-adipeux comme le muscle, le foie ou les tissus péricardique et périvasculaire (graisses ectopiques). Un surplus de tissu adipeux viscéral est donc un marqueur de dysfonctions du tissu adipeux sous-cutané (figure 10) (91, 92).

L'hypertrophie des cellules adipeuses viscérales et la présence de dépôts de graisses ectopiques sont néfastes et contribuent à certains dérèglements métaboliques (adiposopathie) (93). En effet, les cellules adipeuses viscérales sécrètent des cytokines et des adipokines telles le $\text{TNF}\alpha$, l'interleukine-6 (IL-6) et la résistine (associée à l'IR). Elles sont aussi reconnues pour diminuer l'expression de la leptine (sensation de satiété) et de l'adiponectine (régulation du métabolisme du glucose et des lipides, sensibilise à l'insuline et protège la fonction endothéliale). L'hypertrophie du tissu adipeux viscéral favorise donc l'activation de processus inflammatoires et oxydatifs, l'IR, les dysfonctions endothéliales, l'hypertension et encourage le débalancement énergétique positif par la diminution de la sensibilité aux signaux de satiété (93-99). De plus, l'obésité viscérale influence le métabolisme lipoprotéinique puisqu'elle augmente les niveaux d'acides gras circulants et hépatiques, augmente la sécrétion de chylomicrons et de VLDL (contenant l'ApoCIII, inhibiteur de la LPL) et diminue l'expression des LDLR et l'activité de la LPL. Ces dérèglements métaboliques ralentissent la clairance des lipoprotéines, prolongent la période postprandiale et, de façon chronique, mènent aux dyslipidémies (100, 101).

À l'opposé du tissu adipeux viscéral, le tissu adipeux sous-cutané fonctionnel ne produit pas de cytokines pro-inflammatoires, n'a pas autant d'impacts métaboliques négatifs et est donc moins associé aux maladies cardiovasculaires (95). C'est d'ailleurs cette particularité qui expliquerait en partie les différences de risques cardiovasculaires entre les sexes (i.e. les femmes pré-ménopausées ont généralement plus de tissu adipeux sous-cutané, dû à une activation des LPL de ce tissu) et entre les obèses métaboliquement sains (i.e. possédant plus de tissu adipeux sous-cutané) et ceux métaboliquement atteints.

La mesure du tour de taille permet de distinguer l'obésité abdominale (i.e. tour de taille supérieur à 94 cm chez l'homme et à 80 cm chez la femme) de l'obésité périphérique et est maintenant préférée au calcul de l'IMC comme outil diagnostique. Cependant, il a été démontré que la présence d'un tour de taille augmenté peut être associé à un surplus de

VAT, mais aussi de tissu adipeux sous-cutané au niveau abdominal (91). C'est pour cette raison qu'un critère a dû être ajouté à la mesure du tour de taille pour distinguer un surplus de masse adipeuse abdominale sous-cutanée de celle viscérale (discuté en détail à la section 1.4.7).

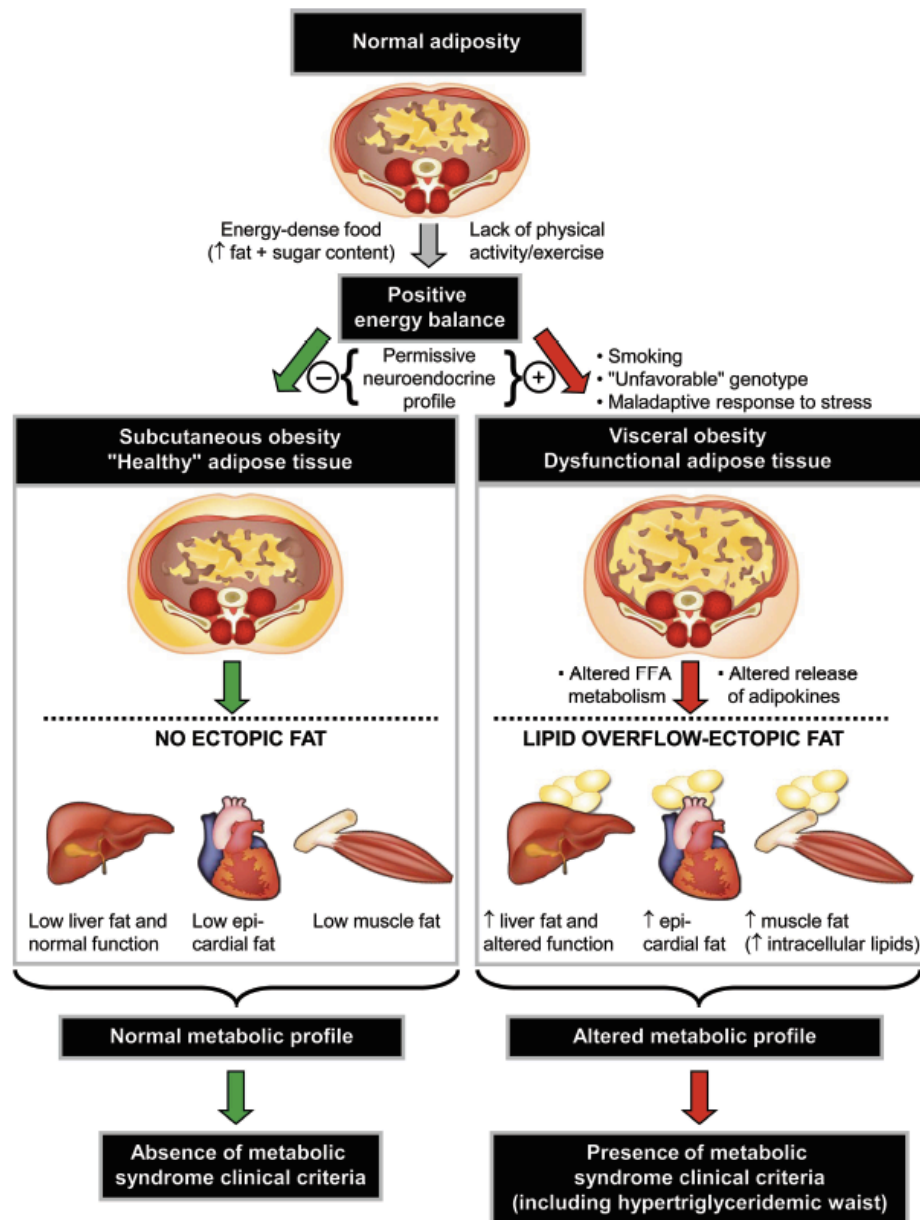


Figure 10. Schématisation de la dysfonction adipocytaire, de la déposition de graisses ectopiques et des altérations métaboliques associées. Tirée de Després et al. 2012 (91).

1.4.2 Diabète

Le DTII ou diabète non insulino-dépendant est caractérisé par une diminution de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline (se traduisant par des périodes d'hyperglycémie et d'hyperinsulinémie prolongées) et, à plus long terme, par une diminution de la sécrétion pancréatique d'insuline (102). Le DTII augmente le risque de maladies cardiovasculaires et d'insuffisance rénale, indépendamment de la présence de dyslipidémies ou d'embonpoint/obésité (88). L'incidence de maladies coronariennes sur 10 ans chez des sujets DTII est équivalente à celle de patients souffrant déjà de maladies coronariennes (101). La prévalence de DTII, qui était de 5.5% au Canada en 2008, augmente avec l'âge, l'IMC et le tour de taille (103, 104). En effet, l'adiposopathie et la présence de graisses ectopiques engendrent la réponse dite « *Unfolded protein response* » (UPR) et activent les kinases c-Jun N-terminal (*c-Jun N-terminal Kinases*, c-JNK) qui diminuent la sensibilité des récepteurs d'insuline au niveau musculaire, hépatique et adipeux. Ces processus mènent donc à l'IR et à l'hypercholestérolémie (96).

L'association importante entre le DTII et les événements cardiovasculaires résulte des multiples effets néfastes de l'hyperglycémie et de l'IR (105). Entre autres, des périodes prolongées d'hyperglycémie engendrent une surcharge du métabolisme du glucose qui mène à la formation du diacylglycérol qui inhibe la eNOS et active la production d'ET-1, de ROS (via la NADPH oxydase), de NF- κ B (pro-inflammatoire) et de facteurs pro-thrombotiques et de perméabilisation vasculaire (VEGF) (105). Finalement, la surcharge du métabolisme mitochondrial glycémique mène à la formation de produits de glycations avancées (*Advanced glycation end-product*, AGE), responsables de la sécrétion macrophagienne de cytokines pro-inflammatoires (figure 11) (105). L'hyperglycémie est donc un facteur de risque majeur de complications macrovasculaires et de dysfonctions endothéliales. L'hyperglycémie et l'IR peuvent aussi affecter les fonctions microvasculaires puisque le recrutement capillaire est dépendant de l'insuline (comme vu précédemment) (44).

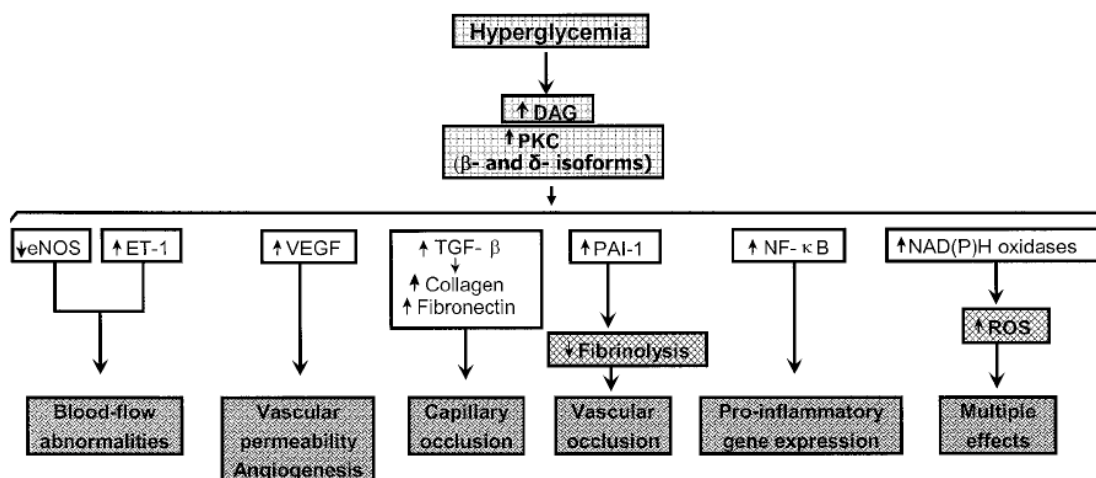


Figure 11. Conséquences métaboliques de l'hyperglycémie. Tirée de Brownlee 2005 (105).

1.4.3 Dyslipidémies

Les dyslipidémies représentent une classe hétérogène d'anomalies métaboliques de causes génétiques (qui ne seront pas discutées ici) ou environnementales. Les dyslipidémies les plus fréquemment rencontrées sont l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie et celles reliées aux faibles niveaux de HDL (88). Les dyslipidémies sont souvent associées à l'obésité et à l'IR puisque ces conditions diminuent l'efficacité de clairance des lipoprotéines exogènes et en augmentent la présence en circulation.

1.4.3.1 Hypercholestérolémie

Puisque la majorité du cholestérol total est transporté par les LDL, l'hypercholestérolémie réfère souvent à des niveaux élevés de LDL (88). Environ 40% de la population canadienne présente des niveaux de cholestérol totaux et/ou de LDL élevés (106). En plus des causes génétiques, l'obésité, l'inactivité physique et certaines composantes alimentaires peuvent augmenter les niveaux de LDL. L'hypercholestérolémie est indépendamment associée à l'incidence de maladies coronariennes chez des sujets sains et à la récurrence d'évènements ischémiques. De plus, le risque d'évènements coronariens augmente de façon linéaire avec les niveaux de LDL (82, 88). Ces associations relèvent du rôle important joué par les LDL dans l'initiation de processus athérogéniques, la formation de cellules spumeuses et dans l'instabilité et la rupture de plaques (discuté précédemment à la section

1.3) (70, 72). De plus, des niveaux élevés de LDL interagissent avec la eNOS et diminuent la synthèse de NO (5).

Une méta-analyse importante démontre que la diminution des niveaux de LDL à l'aide de différentes statines diminue le risque cardiovasculaire de façon significative (107). La normalisation des niveaux de LDL (par thérapies pharmacologiques ou modifications des habitudes de vie) est donc une cible thérapeutique importante dans la prévention d'évènements cardiovasculaires selon le *National Cholesterol Education Program* (NCEP) et la Société canadienne de cardiologie (SCC) (88, 108). Cependant, il existe toujours un risque résiduel d'évènements cardiovasculaires chez des individus sous traitements aux statines et ayant des niveaux optimaux de LDL. Ceci dénote la responsabilité limitée des LDL et suggère une responsabilité importante des autres facteurs de risque (lipidiques et autres) dans la détermination du risque cardiovasculaire global. Ceci ajoute aussi de l'importance à la prise en charge du mode de vie qui a un impact plus global que les traitements pharmacologiques (discuté en section 1.5) (109).

1.4.3.2 Hypertriglycémie

L'hypertriglycémie, présente chez environ 25% des Canadiens, est associée à l'augmentation du risque d'évènements coronariens (106, 110). L'indépendance de cette association est cependant difficile à démontrer de par le lien étroit entre l'hypertriglycémie et certains autres facteurs de risque comme l'obésité, l'IR et les faibles niveaux de HDL (88, 111, 112).

Comme discuté plus tôt, l'obésité et l'IR ralentissent la clairance des lipoprotéines riches en triglycérides (chylomicrons, VLDL et IDL) et sont donc associées à l'hypertriglycémie. De plus, en situation d'hypertriglycémie, ces lipoprotéines riches en triglycérides interagiront avec la CETP qui échangera les triglycérides des VLDL avec le cholestérol des LDL et des HDL. Ce faisant, les VLDL s'enrichiront en cholestérol alors que les LDL et les HDL s'enrichiront en triglycérides. Les LDL ainsi modifiées seront plus petites et plus denses (*small dense LDL* ou sdLDL) que les natives, seront plus susceptibles d'être peroxydées et auront donc un potentiel athérogénique plus important (figure 12) (113, 114). L'hypertriglycémie est aussi associée aux faibles niveaux de HDL puisque l'enrichissement des HDL en triglycérides accélérera leur catabolisme et en diminuera leur

nombre (voir section suivante) (115). L'hypertriglycéridémie mesurée à jeun ne pourrait donc être qu'un marqueur secondaire de ces anomalies métaboliques (113).

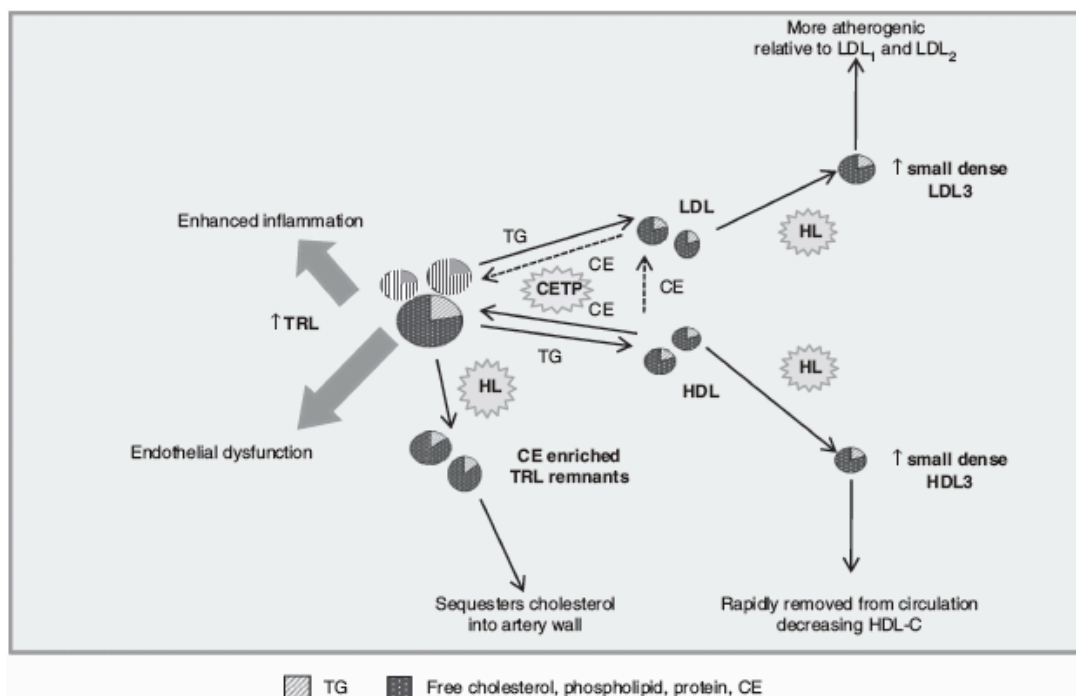


Figure 12. Interactions multiples entre les lipoprotéines circulantes et la protéine de transfert de cholestérol estérifié (CETP). Tirée de Minihane et al. 2013 (116).

CE : Ester de cholestérol (*Cholesterol ester*), HL : Lipase hépatique (*Hepatic lipase*), TRL : Lipoprotéine riche en triglycérides (*Triglyceride-rich lipoprotein*)

Une relation indépendante a été observée entre les niveaux de triglycérides en période postprandiale et les événements cardiovasculaires (117, 118), relation qui pourrait être expliquée par le fait que, les résidus de lipoprotéines formés suite au métabolisme des chylomicrons et des VLDL ont un potentiel athérogénique important (113, 119).

L'hypertriglycéridémie serait liée aux dysfonctions endothéliales puisque des niveaux élevés de triglycérides en circulation favoriseraient leur internalisation et leur métabolisme par les mitochondries des parois vasculaires et engendreraient la surcharge de la chaîne de transport d'électrons. De telles surcharges mèneraient ultimement au découplage de la chaîne de transport d'électrons (au niveau du complexe III), aux dysfonctions

mitochondriales, à la formation de ROS et à la diminution de la biodisponibilité du NO (discuté plus en détail à la section 2.2.1) (28, 120).

1.4.3.3 Faibles niveaux de HDL

Les HDL jouent un rôle pivot dans l'efflux de cholestérol des macrophages vasculaires, prévenant ainsi la formation de plaques athéromateuses et diminuant la taille de celles déjà présentes. De plus, les HDL sont constituées de plusieurs protéines aux propriétés anti-inflammatoires (vasculaire et adipocytaire), antioxydantes, anti-thrombotiques et diminuant l'attraction et l'activation monocyttaire (121, 122). Ces caractéristiques sont responsables de l'association inverse entre les HDL et l'incidence d'évènements cardiovasculaires. Ils sont d'ailleurs utilisés dans la prédiction du risque de Framingham et sont un meilleur prédicteur indépendant du risque cardiovasculaire que les niveaux de LDL (121, 123, 124). En plus d'être associés à l'obésité, à l'IR et à l'hypertriglycémie, de faibles niveaux de HDL peuvent être liés à certaines composantes génétiques ou être engendrés par le tabagisme, l'inactivité physique et une diète inadéquate (125).

L'augmentation du nombre de HDL par infusion d'ApoA1 a été associée à la diminution de la taille de plaques athéromateuses chez des patients avec des maladies coronariennes aiguës (126). Cependant, des études cliniques testant l'efficacité de thérapies pharmacologiques augmentant les niveaux de HDL (inhibiteurs de la CETP) dans la prévention de la récurrence d'évènements coronariens ont mené à des résultats non-concluants et laissent croire que la concentration totale de HDL n'est pas le seul élément en dictant les propriétés cardioprotectrices (122, 125).

La composition et la fonctionnalité des enzymes et des apolipoprotéines associées aux HDL semblent avoir un rôle déterminant sur leurs effets cardioprotecteurs. En effet, l'absence ou la modification structurelle des protéines associées aux HDL pourrait limiter leur participation au transport inverse du cholestérol et/ou altérer leurs propriétés énumérées plus tôt. Des facteurs génétiques ou un profil métabolique associé à des niveaux d'inflammation et de stress oxydatif élevés pourraient être la cause de telles altérations structurelles et fonctionnelles et expliquer que les HDL provenant de patients coronariens aient un potentiel cardioprotecteur moindre que ceux provenant de sujets sains. Il se pourrait que l'élévation des niveaux de HDL dysfonctionnels ne soit donc pas nécessairement cardioprotectrice et pourrait même être pro-athérogénique (121, 127, 128).

1.4.3.4 Marqueurs lipidiques émergeants

La meilleure compréhension des dyslipidémies a engendré dans les dernières années l'émergence de nouveaux marqueurs lipidiques ayant pour objectif l'amélioration de l'évaluation du risque cardiovasculaire.

Un de ces marqueurs, l'ApoB100, permet la quantification des VLDL, des IDL et des LDL circulantes et donc une meilleure évaluation des niveaux de lipoprotéines athérogéniques. De plus, la comparaison des niveaux de LDL à l'ApoB100 permet l'évaluation de la densité des LDL, qui est un paramètre influençant leur potentiel athérogénique. En effet, un ratio cholestérol LDL : ApoB100 faible reflète qu'une quantité élevée de LDL circule avec peu de cholestérol et donc que ces LDL sont petites et denses et donc plus athérogéniques (129). Les niveaux d'ApoB100 augmentent avec le tour de taille et avec la présence de maladies coronariennes (130). L'ajout de l'ApoB100 améliore la prédiction du risque d'évènements ischémiques (131) et le ratio ApoB/ApoA1 est associé aux infarctus du myocarde (132).

Les niveaux de cholestérol circulant dans les lipoprotéines athérogéniques peuvent être mesurés encore plus simplement en soustrayant les niveaux de cholestérol dans les HDL des niveaux de cholestérol totaux (cholestérol non-HDL). Le cholestérol non-HDL est corrélé aux niveaux d'ApoB100 et, chez des sujets hypertriglycéridémiques, est plus fortement relié à la mortalité coronarienne que le sont les LDL (88). L'ApoB100 et le cholestérol non-HDL sont reconnus par le NCEP et ont récemment été ajoutés aux recommandations lipidiques de la SCC (88, 108).

Finalement, la fonction des HDL peut être utilisée pour préciser le risque cardiovasculaire puisqu'elle semble être plus révélatrice que leur simple concentration plasmatique (121). La fonction des HDL peut être évaluée par la mesure *ex vivo* de leur capacité d'efflux du cholestérol de macrophages vasculaires ou la quantification de leur activité anti-inflammatoire ou antioxydante. En effet, la capacité d'efflux de cholestérol est inversement associée à l'IMT et aux risques de maladies coronariennes et ce, indépendamment de la concentration de HDL (133). De telles méthodes sont cependant peu utilisées parce que trop laborieuses et ne font pas encore l'objet de recommandations (122).

1.4.4 Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle, définie comme une élévation persistante de la tension systolique de repos au-dessus de 140 mm Hg et diastolique au-dessus de 90 mm Hg, est la première cause de morbidité-mortalité mondiale et affecte près du tiers des Canadiens (134). L'hypertension artérielle est en grande partie idiopathique et 80% des individus souffrant d'HTA présentent d'autres facteurs de risque de maladies cardiovasculaires comme le vieillissement, l'obésité, le diabète et les dyslipidémies (135). Seulement 7% des individus à faible risque de développer une maladie cardiovasculaire étaient hypertendus selon l'étude Framingham (136). Outre les causes endocriniennes (dérèglement du système rénine-angiotensine), l'HTA est invariablement associée à une surcharge oxydante et inflammatoire et à des dysfonctions endothéliales (présentes dans l'obésité, l'IR et le DTII) (134, 137, 138). Une consommation trop élevée de sodium (sel de table) engendre aussi l'HTA par augmentation du volume sanguin et du stress oxydatif.

Comme vu précédemment, l'obésité viscérale est associée à des niveaux anormaux d'adipokynes aux propriétés vasoconstrictrices comme l'ET-1 et l'angiotensine. Ces adipokynes augmentent aussi le stress oxydant et inflammatoire qui contribuent d'autant plus à la dysfonction endothéliale (137). De plus, l'IR et le DTII sont associés à une diminution insulino-dépendante de la eNOS et donc à la biodisponibilité du NO. L'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie activent aussi le système nerveux sympathique et la réabsorption rénale de sodium qui résultent en l'augmentation de la réponse au stress, à la vasoconstriction et en l'augmentation du volume sanguin (137). D'ailleurs, la prévalence de l'HTA est deux fois plus élevée chez des individus atteints d'IR et de DTII (138). L'HTA peut donc être vue comme la manifestation clinique de dysfonctionnements métaboliques responsables du déséquilibre de l'homéostasie vasculaire. L'augmentation de l'incidence de maladies cardiovasculaires, cérébrovasculaires et de l'insuffisance rénale associées à l'HTA découlerait donc de l'atteinte de fonctions macro et microvasculaires.

1.4.5 Inactivité physique

L'inactivité physique ou le fait de ne pas dépenser au moins 27 kilocalories par kilogramme de masse corporelle quotidiennement augmente le risque d'obésité, de DTII, de dyslipidémies et de dysfonction endothéliale. L'inactivité physique augmente la mortalité de

causes cardiovasculaires et constitue un facteur important de mortalité de toutes causes et de causes cardiovasculaires (139, 140).

L'inactivité physique influence la plupart des facteurs de risque cardiovasculaire énumérés jusqu'à maintenant. Elle diminue entre autres la capacité de régulation musculaire du métabolisme glycémique en réponse à l'insuline (inflexibilité métabolique) et empêche celle de l'oxydation des lipides. L'inactivité favorise donc le DTII et l'accumulation d'acides gras hépatiques (140). De plus, l'inactivité physique s'accompagne de réduction des forces de cisaillement moyennes qui diminue donc l'activité de la eNOS et la sécrétion du NO et s'accompagne de l'élévation de l'ET-1 et de l'angiotensine II. L'inactivité physique résulte donc globalement au déséquilibre de l'homéostasie vasculaire et à la diminution de la fonction endothéliale. L'inactivité physique est aussi associée au remodelage vasculaire et à l'épaississement de l'IMT (141).

Les directives en matière d'activité physique recommandent au moins cinq séances de 30 minutes à intensité modérée ou trois séances de 20 minutes à haute intensité par semaine (82). Un effet dose-réponse de l'activité physique a aussi récemment été identifié et démontre que seulement 15 minutes d'activité physique quotidiennement serait bénéfique pour diminuer la mortalité de toutes causes et ce, pour tous les groupes d'âge et de risques cardiovasculaires (142). L'activité physique renverse les processus néfastes énumérés ci-haut, améliore les capacités antioxydantes de l'organisme et facilite la régulation de l'apport calorique en diminuant l'appétit (143).

1.4.6 Tabagisme

La proportion de fumeurs actifs est en diminution constante au Canada et ne représenterait plus que 17% de la population en 2011 (vs. 25% en 1999) (144). En plus des effets pulmonaires néfastes et de son potentiel cancérigène, le tabagisme augmente l'incidence de maladies cardiovasculaires tels les maladies artérielles périphériques et coronariennes et les infarctus du myocarde et ce, de façon spectaculaire (145, 146).

Les impacts négatifs de la fumée de cigarette, qu'elle soit primaire ou secondaire, sont associés à son contenu en une multitude de substances toxiques et pro-oxydantes aux effets biologiques multiples. Par exemple, ces substances inhibent la eNOS et diminuent la

synthèse du NO (146, 147) se traduisant par une diminution de la fonction endothéliale chez des fumeurs (148). L'inhalation de fumée de cigarettes engendre aussi l'activation leucocytaire, plaquettaire et de molécules d'adhésion cellulaire qui augmentent les processus inflammatoires, oxydatifs, thrombotiques et donc athérogéniques (146). Le tabagisme diminuerait aussi la sensibilité à l'insuline et rendrait le profil lipidique des fumeurs plus athérogénique (cholestérol total, triglycérides, VLDL et LDL augmentées et HDL diminuées). Les LDL, circulant en plus grande quantité chez les fumeurs, seraient aussi plus oxydées et donc plus athérogènes (149). Certaines toxines, telle l'acroléine, altèreraient aussi les fonctions cardioprotectrices des HDL (150).

1.4.7 Syndrome et triade métabolique

Comme vu dans les dernières sections, les facteurs de risque modifiables de maladies cardiovasculaires sont donc intimement reliés et souvent regroupés. C'est d'ailleurs cette caractéristique qui a mené à la définition du syndrome métabolique (MetS) comme une constellation d'au moins trois facteurs de risque souvent identifiés à l'aide des critères énumérés dans la tableau suivant (151).

De par sa définition, le MetS regroupe des individus aux profils anthropométriques et métaboliques hétérogènes et peut donc être associé à un éventail de risques cardiovasculaires assez large. De plus, la présence de MetS ne résulte pas nécessairement à un risque cardiovasculaire élevé, ce qui rend son utilisation assez controversée (152).

Tableau II. Critères diagnostiques du syndrome métabolique selon le NCEP ATP III (88).

	Au moins 3 des facteurs de risque suivants doivent être présents
Glycémie à jeun	≥ 5.6 mmol/L
Tension artérielle	≥ 130/≥85 mmHg
Triglycéridémie à jeun	≥ 1.7 mmol/L
Niveau de HDL	Hommes < 1.03 mmol/L Femmes < 1.29 mmol/L
Obésité abdominale (tour de taille)	Hommes > 102 cm Femmes > 88 cm

Pour pallier à ces controverses, Després et al. ont proposé que l'obésité viscérale soit le point central de l'identification d'un profil métabolique à haut risque cardiovasculaire puisque cette forme d'obésité semble être déclencheur des autres facteurs de risque cardiovasculaire. En effet, l'obésité viscérale est une manifestation de l'adiposopathie et est étroitement liée à l'IR et au DTII qui contribuent aux dérèglements métaboliques à l'origine des dyslipidémies (114). Cette forme d'obésité est aussi souvent associée à des niveaux d'adipokynes et de cytokines pro-inflammatoires et de stress oxydant élevés, engendrant des dysfonctions endothéliales précurseurs d'HTA et d'athérosclérose (96).

Comme vu précédemment, la simple présence d'un tour de taille augmenté n'est pas nécessairement le reflet d'une obésité viscérale à haut risque cardiovasculaire, mais pourrait découler d'un surplus de masse adipeuse sous-cutanée au niveau abdominal sans dysfonctions métaboliques (i.e. individus obèses, mais métaboliquement sains). L'ajout de la mesure de la triglycéridémie à la mesure du tour de taille permet de caractériser l'obésité abdominale (153). En effet, la présence d'hypertriglycéridémie (triglycérides à jeun ≥ 1.7 mmol/L) témoigne de dérèglements métaboliques sous-jacents à des dysfonctions du tissu adipeux sous-cutané et donc de la présence de surplus de tissu adipeux viscéral et ectopique (i.e. dérèglements de la clairance postprandiale de triglycérides et/ou du contrôle de la lipolyse à jeun). De plus, l'hypertriglycéridémie est associée à la triade athérogénique (IR, niveaux d'ApoB100 et de sdLDL élevés). Ce nouveau critère diagnostique, défini comme le « tour de taille hypertriglycéridémique », est aussi relié aux faibles niveaux de HDL, à l'HTA et à la CRP élevées. La présence de ce syndrome, combinant dysfonctions métaboliques et vasculaires, augmente le risque de maladies coronariennes de deux à trois fois (figure 13) (95, 130, 154).

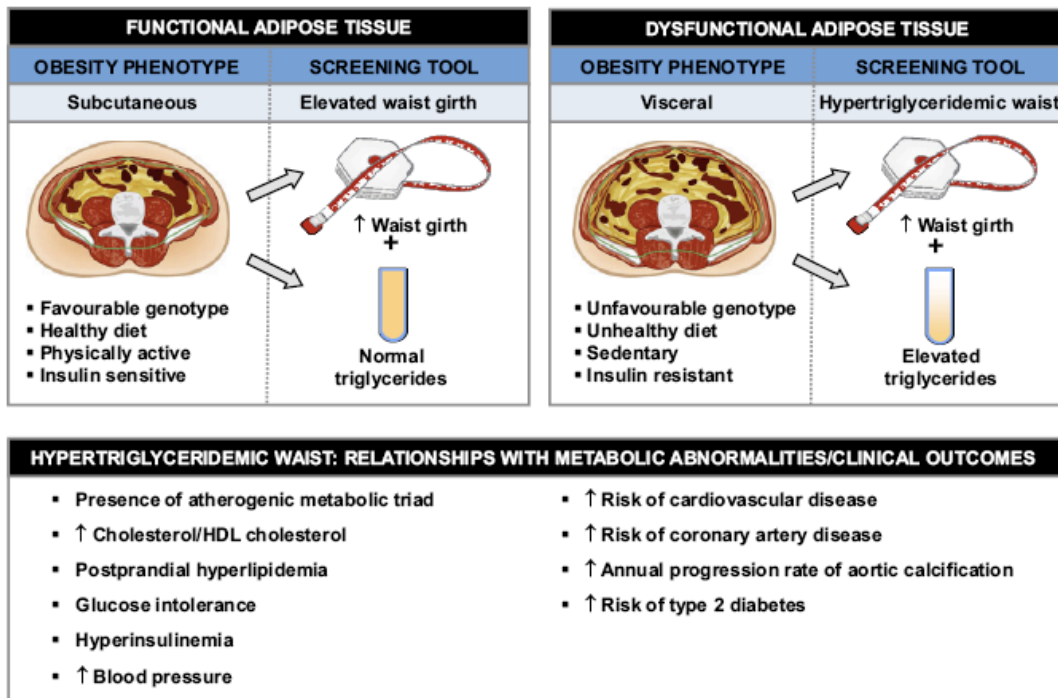


Figure 13. Le « tour de taille hypertriglycéridémique » comme outil diagnostique d'obésité à risque cardiovasculaire élevé. Tirée de Després et al. 2012 (95).

En résumé,

Les facteurs de risque de maladies cardiovasculaires détaillés précédemment ont en commun d'altérer la fonction endothéliale et d'augmenter les niveaux d'inflammation et/ou de stress oxydatif et donc d'augmenter les risques de formation d'athéromes.

Dans une majorité de cas, l'obésité abdominale semble jouer un rôle central et déclencheur des dérèglements métaboliques associés aux autres facteurs de risque modifiables. La mesure du tour de taille et l'identification de la triade de dérèglements métaboliques par la présence d'hypertriglycéridémie est maintenant un point central de la détermination du risque cardiométabolique.

1.5 Prévention des maladies cardiovasculaires

Puisque les facteurs de risque discutés précédemment sont définis comme modifiables et que leurs impacts sont réversibles, leur absence ou leur élimination peut être bénéfique dans la prévention des maladies cardiovasculaires. La prévention ou l'élimination de ces facteurs peut se faire par une multitude d'options pharmacologiques (hypoglycémifiants, hypolipémiants, hypotenseurs, etc.), mais qui sont souvent coûteuses et potentiellement associées à des effets secondaires ou par la prise en charge des mauvaises habitudes de vie. Cette dernière option donne des résultats qui arrivent à répliquer ou même surpasser ceux des traitements pharmacologiques.

En effet, l'absence de facteurs de risque cardiovasculaire est associée à une calcification coronarienne, à des IMT carotidiennes et à des taux de mortalité moindres (155-157). Folsom et al. ont identifié quatre comportements santé : 1) non-fumeur, 2) IMC normal, 3) activité physique et 4) alimentation saine et trois facteurs santé : 5) cholestérolémie normale, 6) pression artérielle normale et 7) glycémie normale. À partir de la base de données communautaires ARIC, il a été établi que seulement 0,1% de la population américaine se conformait à la totalité de ces sept comportements/facteurs santé et que la présence de seulement quatre de ceux-ci serait suffisante pour prévenir 70% des cas d'évènements coronariens et 77% des cas d'insuffisance cardiaque. La relation entre nombre de comportements/facteurs santé et le risque d'évènements cardiovasculaires est d'ailleurs linéaire au point où la présence de la totalité de ceux-ci serait associée à un risque nul d'évènements sur 20 ans (158).

Outre les effets bénéfiques de la cessation tabagique et de l'activité physique qui ont déjà été couverts, une alimentation saine peut mener au maintien d'un poids santé et influencer plusieurs facettes du métabolisme. Une alimentation saine peut donc à elle seule permettre l'atteinte des facteurs santé de Folsom et al. et contribuer à la prévention de plusieurs maladies chroniques. Le contraire est évidemment aussi vrai; une alimentation inadéquate peut aussi mener à des dérèglements qui iront à l'encontre de la plupart des comportements/facteurs santé. Ces aspects seront discutés plus en détails dans le chapitre suivant.

2. Aspects nutritionnels

2.1 L'alimentation, facteur de risque et de protection cardiovasculaire

2.1.1 Révolution industrielle et diète nord-américaine

L'alimentation des premiers humains était constituée exclusivement d'aliments issus de la chasse, de la pêche, de la cueillette et/ou de l'agriculture (159, 160). À cette époque, les compositions des différents régimes des premières populations étaient bien différentes entre elles et étaient dépendantes de la géographie et du climat. Ces régimes étaient cependant invariablement de densité énergétique plus élevée puisque pauvres en sucres simples ou rapides et dépourvus d'aliments transformés, comparativement aux régimes modernes. La révolution industrielle qui s'est opérée en Occident au cours du dernier siècle a été accompagnée de l'augmentation des apports caloriques moyens et de la consommation de boissons et de friandises sucrées, de charcuteries et de produits laitiers entiers et de la diminution de la consommation de fruits et légumes et de grains entiers (161). Au niveau nutritionnel, l'apport en acides gras totaux a diminué (de 37 à 33%) au dépend des glucides (de 42 à 48%) provenant majoritairement de boissons sucrées (de 11 à 21% des calories totales) riches en sucres simples tel le fructose (161). De plus, la proportion d'acides gras saturés (*Saturated fatty acids*, SFA) a augmenté par rapport aux acides gras insaturés ainsi que le ratio acides gras polyinsaturés (*Polyunsaturated fatty acid*, PUFA) oméga-6 :oméga-3 (typiquement trop élevé dans la diète nord-américaine) (162). L'augmentation des aliments transformés a aussi engendré l'apparition des acides gras partiellement hydrogénés *trans* et l'augmentation du sodium consommé (159, 160). Finalement, la révolution industrielle a aussi entraîné une diminution des heures d'activité physique et de sommeil et une augmentation de l'exposition aux polluants de toutes sortes.

L'avènement de la révolution industrielle concorde avec l'augmentation des maladies dites de civilisation (maladies cardiométaboliques, cancers, etc.) en Occident. Certains ont suggéré que la pression évolutive occasionnée par la survenue trop rapide (moins de 0.1%

de la période d'évolution complète du génome humain) de ces changements nutritionnels importants pourrait en être la cause (159, 160). Des études observationnelles rapportent en effet que la plupart des aliments caractérisant la diète nord-américaine (sucrieries, charcuteries, croustilles, frites et beurre) sont associés à la prise de poids (163). En outre, la combinaison de ceux-ci dans la restauration rapide, caractéristique principale de la diète nord-américaine, est associée à la diminution de la densité énergétique et à l'augmentation des apports caloriques, de l'obésité, de l'IR et du DTII (164).

Le phénomène de transition nutritionnelle, relatif à l'exposition au mode de vie occidental de populations y étant naïves, contribue à supporter le lien de causalité entre l'alimentation nord-américaine et les maladies cardiovasculaires. Ce phénomène démontre que chez des populations méditerranéennes, orientales ou sud-américaines, l'exposition à l'alimentation occidentale fait apparaître au fil du temps des dérèglements métaboliques comme ceux observés dans les populations nord-américaines. Par exemple, l'apparition du mode de vie nord-américain et la consommation de SFA en Crête a engendré une augmentation de l'IMC, des niveaux de LDL et de la pression artérielle (165). L'exposition à un tel mode de vie chez des populations orientales ou de l'Europe de l'Est a aussi été associée aux dyslipidémies, à l'embonpoint et à l'obésité, à l'augmentation de l'IMT, à l'apparition de plaques athéromateuses (166-168) et à l'augmentation de l'incidence de maladies coronariennes (169). Bien qu'aucune étude randomisée n'ait été effectuée à ce jour, ce genre de phénomène conforte le lien entre l'exposition à la diète nord-américaine et la survenue de maladies cardiovasculaires.

2.1.2 Diète méditerranéenne

Certaines populations et régions ont échappé à l'industrialisation des habitudes alimentaires (et de mode de vie), possiblement à cause de leur appauvrissement durant la période de l'après-Seconde guerre mondiale, et ont maintenu une alimentation ressemblant à celle qui prévalait avant la révolution industrielle (170). Keys et al. identifient de telles populations dans certains pays bordant la Méditerranée (Grèce, Croatie et Serbie) et en Asie (Japon) (171). Leur diète, identifiée comme méditerranéenne, est basée majoritairement sur des aliments non-transformés d'origine végétale et marine et est caractérisée généralement par des apports quotidiens élevés en huile d'olive extra-vierge

(*Extra virgin olive oil*, EVOO), en fruits et légumes, en grains entiers, en noix et graines, en légumineuses et par des apports fréquents en poissons, en volailles, en produits laitiers faibles en gras et en alcool (172, 173). La consommation de viandes rouges, de produits laitiers entiers et de sucreries y est limitée (figure 14).

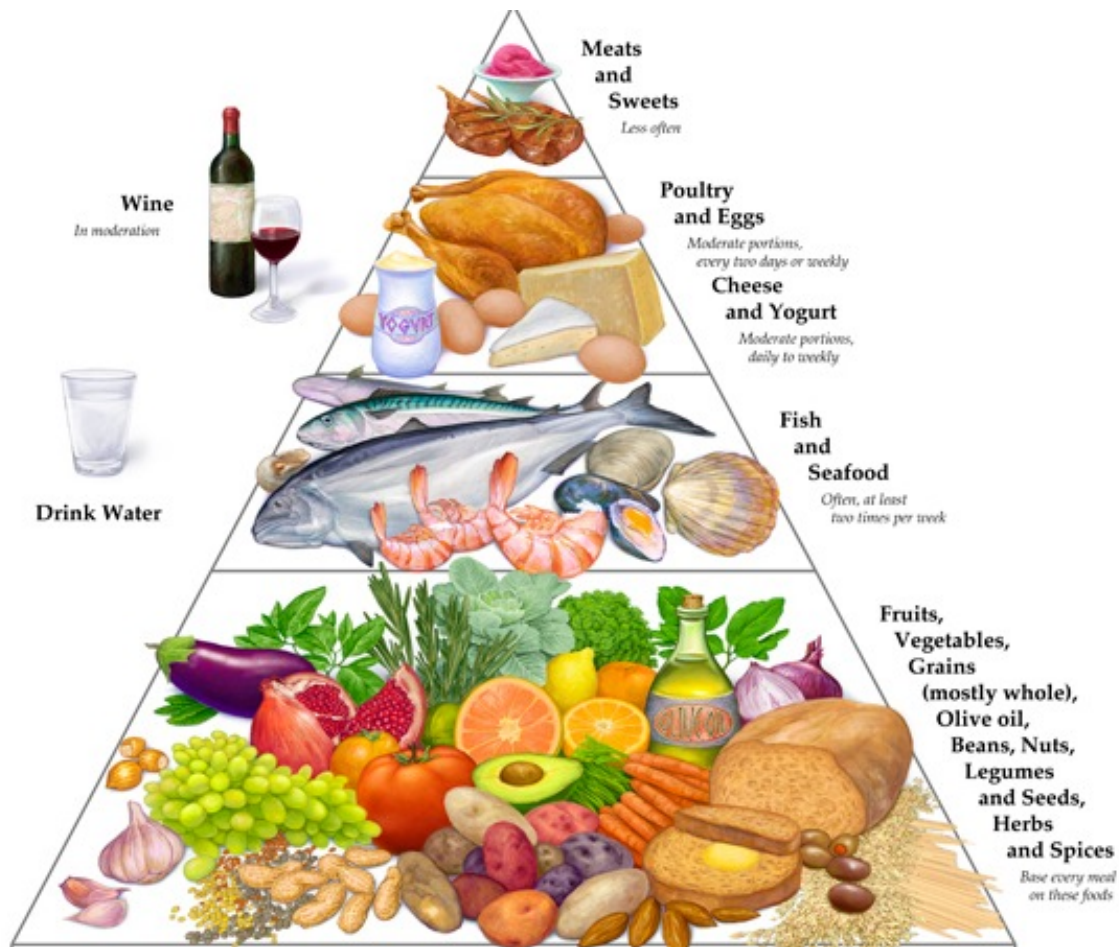


Figure 14. Représentation de la diète méditerranéenne. Les aliments se retrouvant à la base de la pyramide doivent être consommés quotidiennement et ceux à la pointe doivent être évités. Modifiée de Middleton (2009) (174).

De par sa composition, la diète méditerranéenne est relativement riche en acides gras totaux (dépassant même les limites supérieures de certaines recommandations nutritionnelles de l'*American Heart Association* [AHA]), mais se distingue par sa richesse en acides gras monoinsaturés (*Monounsaturated fatty acids*, MUFA) et en PUFA oméga-3, par son ratio PUFA oméga-6 :oméga 3 plus faible que celui de la diète nord-américaine et par sa plus faible teneur en SFA et en acides gras *trans*. Ce régime est aussi riche en composés antioxydants et en fibres (173).

Ces particularités confèrent à ce régime alimentaire un effet cardioprotecteur. En effet, Keys et al. observent que les populations adhérant à la diète méditerranéenne ont des taux de mortalité dues aux maladies cardiovasculaires et aux cancers moins élevés que ceux qui prévalent dans les pays nord-américains et suggèrent que le ratio MUFA :SFA plus élevé dans ces populations en serait responsable (171). Des études observationnelles ont aussi associé la diète méditerranéenne à des IMC et à des tours de taille plus faibles (175, 176) qui seraient dus à la capacité qu'a ce régime à favoriser le métabolisme des lipides et à augmenter la satiété (177). Ce régime permet aussi de diminuer le cholestérol total, la tension artérielle, l'inflammation, le stress oxydatif et d'améliorer les défenses antioxydantes (178-185). Quelques études randomisées ont confirmé ces observations chez des sujets à haut risque cardiovasculaire (DTII et/ou MetS). En effet, l'adhésion à la diète méditerranéenne diminue le poids corporel, la glycémie, l'IR et l'incidence du DTII, le ratio cholestérol total :HDL (via l'augmentation du HDL), les triglycérides et la tension artérielle. De plus, ce régime induit la diminution de marqueurs d'inflammation (CRP et IL-6) et d'adhésion cellulaire (ICAM et VCAM) et contribue à l'amélioration de la fonction endothéliale (186-191).

Ces propriétés agissent donc en concert pour diminuer les risques de développement de facteurs et de maladies cardiovasculaires tel que confirmé dans une méta-analyse récente. Celle-ci conclut en effet que l'augmentation de l'adhésion au régime méditerranéen diminue de 8% la mortalité de toutes causes et de 10% celle de causes cardiovasculaires (pour chaque tranche de deux points du score méditerranéen de Trichopoulou et al. ou d'un équivalent) chez des individus sans maladies préexistantes (Figure 15) (192).

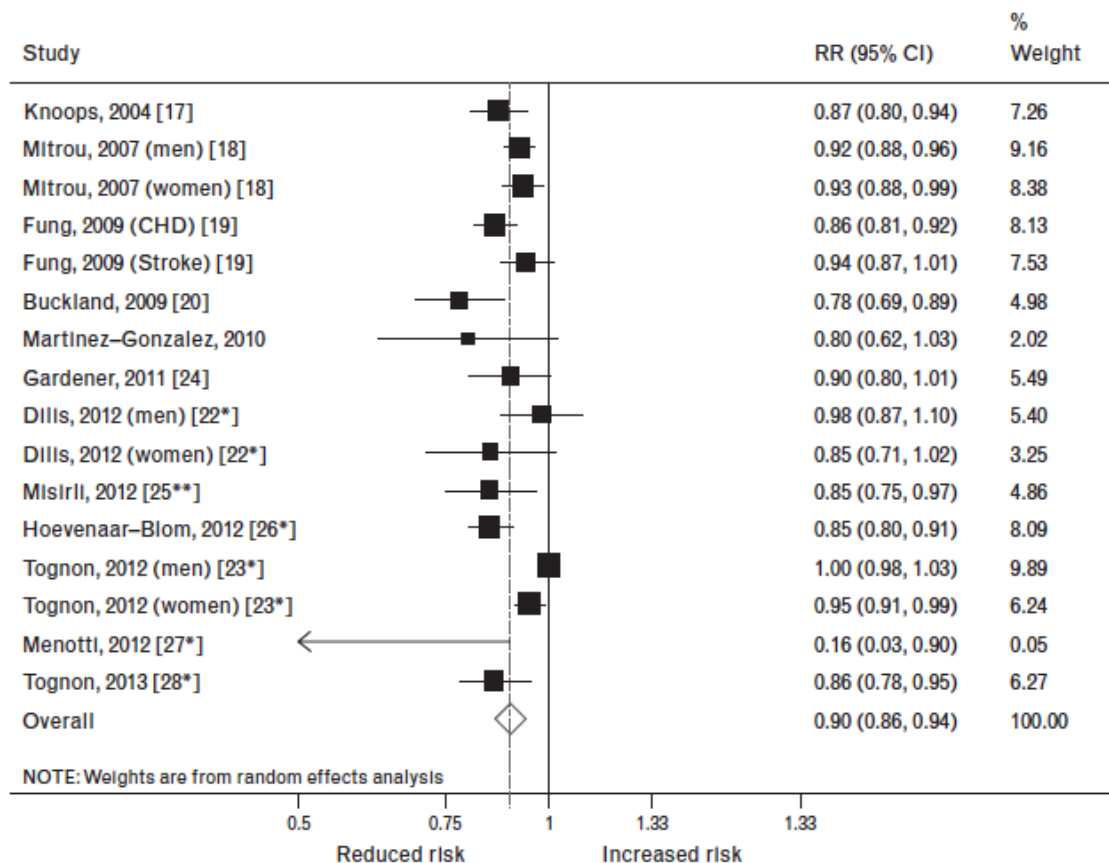


Figure 15. Association entre l'adhésion à la diète méditerranéenne et la mortalité de causes cardiovasculaires. Tirée de Martinez-Gonzalez et al. 2014 (193).

Une étude randomisée récente confirme les bénéfices de la diète méditerranéenne dans la prévention primaire de maladies cardiovasculaires chez des sujets à haut risque (PREDIMED). Cette étude démontre en effet que la consommation d'une diète méditerranéenne comportant des quantités importantes d'EVOO ($\geq 50\text{g/jour}$) ou de noix (Grenoble, amandes et noisettes; 30g total/jour) diminue l'incidence d'événements cardiovasculaires sur cinq ans en comparaison à une diète faible en gras (AHA). La diète méditerranéenne comportant des quantités importantes d'EVOO a aussi été associée à des taux de mortalité de toutes causes plus faibles (194). Une sous-étude a établi que le volume de plaques athérosclérotiques et l'IMT avaient diminué chez les sujets randomisés à une des deux diètes méditerranéennes évaluées (195).

Finalement, tel que conclu par l'étude de Lyon, ce régime est aussi bénéfique dans la prévention de la récurrence d'événements chez des individus déjà atteints de maladies cardiovasculaires. Cette étude a démontré des taux de récurrence et de mortalité dues à un

second infarctus du myocarde diminués en comparaison à une diète prudente (recommandations du NCEP). Cette association a été obtenue indépendamment de l'effet de la diète sur les facteurs de risque traditionnels (196).

2.1.3 Effets métaboliques des composantes caractérisant ces diètes

Bien qu'il soit important que considérer la synergie des différents aliments constituant un régime alimentaire, la connaissance des caractéristiques propres à chacun d'entre eux demeure pertinent. La section suivante décomposera donc le régime nord-américain et le régime méditerranéen en leurs constituants les plus caractéristiques et exposera leurs effets cardiométaboliques et endothéliaux.

2.1.3.1 Boissons sucrées

Comme mentionné plus tôt, la diète nord-américaine est composée de quantités de boissons sucrées en constante augmentation représentant maintenant plus de 21% des calories totales consommées quotidiennement aux États-Unis (vs. 11% en 1965) (161). La popularité de ces boissons concorde avec l'augmentation de la prévalence de l'obésité et des dérèglements métaboliques caractérisant le MetS et elles en seraient les principales responsables (197). De plus, la consommation de boissons sucrées est reliée, de façon dose-dépendante, à l'augmentation du risque de maladies coronariennes (161, 198).

Les boissons sucrées contiennent des quantités importantes de sirop de maïs riche en fructose (aussi présent dans les sucreries et autres aliments industriels) qui 1) favorise la lipogenèse, l'hypertriglycémie et la formation de sdLDL par son interaction avec le PPAR γ et le SREBP-1c, 2) induit la formation de c-JNK qui mène à l'IR, 3) inhibe la eNOS et 4) interfère avec l'action de la leptine ce qui encourage le débalancement calorique positif (89, 197, 199). Lorsque combinées à une alimentation pauvre en fibres comme la diète nord-américaine, les boissons sucrées augmentent la charge glycémique, insulinémique et inflammatoire (200) et engendrent le dysfonctionnement mitochondrial et la production de stress oxydatif. De par ces propriétés, le fructose contribue donc à l'obésité, aux DTII, aux dyslipidémies et à la dysfonction endothéliale.

2.1.3.2 Viandes rouges et acides gras saturés

Les viandes rouges, les charcuteries et les produits laitiers entiers (beurre, fromages et crème) sont parmi les sources principales de protéines et de SFA de la diète nord-américaine. Les SFA, bien que depuis longtemps considérés pour avoir un impact néfaste sur le système cardiovasculaire, seraient en fait une famille d'acides gras aux effets métaboliques hétérogènes. Il semble en effet que les SFA à chaînes moyennes (14:0 et 16:0) soient associés à une augmentation des niveaux de triglycérides et de LDL (surtout sdLDL), à la diminution des HDL, de la sensibilité à l'insuline et de la fonction endothéliale tandis que certains SFA, à chaînes plus longues (acide stéarique, 18:0) n'auraient peu ou pas d'effets métaboliques néfastes (201-204).

Globalement, la consommation de SFA ne serait pas associée aux événements coronariens et aux maladies cardiovasculaires (205). Quelques controverses subsistent cependant comme celles concernant les viandes rouges. En effet, les viandes rouges ont longtemps été associées aux maladies cardiovasculaires, mais il semblerait maintenant que cette association soit influencée par l'état de transformation de celles-ci. Lorsqu'on considère ce paramètre, seules les viandes transformées (charcuteries) sont associées aux événements et à la mortalité cardiovasculaires ce qui innocenterait en partie le contenu en SFA et mettrait une part du blâme sur le sodium et les nitrates qui sont ajoutés aux charcuteries (198, 206). À ce sujet, l'étude EPIC a récemment déterminé que chaque 100 g de charcuteries consommées quotidiennement augmente la probabilité d'événements cardiaques de 70% tandis que la consommation hebdomadaire de 100 g de viande rouge non-transformée augmente la mortalité cardiovasculaire de seulement 8% (207). De leur côté, les produits laitiers (écrémés comme le lait ou entiers comme la crème, le beurre et les fromages) semblent avoir des effets métaboliques neutres et même parfois bénéfiques, mais leur rôle définitif dans le développement de maladies cardiovasculaires est encore incertain (208). Entre autres, la concentration sanguine d'acide pentadécanoïque (15:0), identifié comme bon marqueur de la consommation de produits laitiers, a été inversement associée au risque de maladies coronariennes et cardiovasculaires (209).

Il reste donc encore certaines incertitudes et controverses quant au rôle des SFA dans l'apparition de dysfonctions métaboliques et vasculaires et dans le développement de maladies cardiovasculaires. En plus de l'influence de l'origine et de l'état de transformation des sources de SFA, le profil métabolique et la qualité de l'alimentation globale de chaque

individu pourrait influencer l'impact cardiométabolique de ces acides gras (210). Entre autres, il est assez bien documenté que la quantité de PUFA consommée module l'impact métabolique des SFA (i.e. ratio PUFA :SFA) (198, 211, 212).

2.1.3.3 Huiles végétales partiellement hydrogénées

Certaines huiles végétales sont transformées par l'industrie alimentaire pour qu'elles soient solides à la température ambiante en hydrogénant une partie des doubles liaisons présentes dans les acides gras insaturés qu'elles contiennent. L'hydrogénation partielle des acides gras engendre artificiellement leur réarrangement en position *trans*. De telles huiles partiellement hydrogénées sont présentes dans certaines margarines et corps gras utilisés en pâtisserie. La consommation d'acides gras *trans* aggrave l'IR d'individus déjà à risque de DTII, augmente les niveaux de LDL et diminue ceux de HDL, est pro-inflammatoire et induit des dysfonctions endothéliales. La consommation de ces acides gras au détriment des acides gras d'autres familles augmente les risques de maladies coronariennes (213). La consommation d'acides gras *trans* est donc découragée dans la plupart des recommandations nutritionnelles (214).

Il est cependant à noter que certains acides gras *trans* sont présents constitutivement dans certains aliments issus d'animaux ruminants (produits laitiers, viandes rouges) et que ceux-ci n'auraient pas d'effets néfastes aussi bien définis.

2.1.3.4 Sodium

Le sodium est un élément caractéristique de la diète nord-américaine par sa présence importante dans les aliments transformés industriellement et par son ajout dans la cuisson et la consommation de bon nombre d'aliments. Selon des données récentes, un adulte américain en consommerait en moyenne 3 300 mg quotidiennement ce qui est plus du double des recommandations de l'AHA qui fixe le niveau maximal acceptable à 1 500 mg (215).

Comme vu plus tôt, une consommation trop abondante de sodium induit la réabsorption d'eau au niveau rénal, ce qui mène à l'augmentation du volume sanguin et augmente l'incidence d'insuffisance rénale. En plus de ces effets rénaux, le sodium active le système nerveux sympathique et induit au niveau vasculaire la production de ROS et diminue celle du NO. Globalement, ces effets augmentent la pression sanguine et affectent la

vasodilatation endothéliale augmentant les risques d'HTA, d'hypertrophie du ventricule gauche et ultimement d'évènements cardiovasculaires tels les AVC (215).

Des études randomisées sur la diète *Dietary Approach to Stop Hypertension* (DASH) démontrent que la diminution de consommation de sodium engendre la diminution de pression artérielle chez des individus normaux et hypertendus (216, 217) et serait cardioprotecteur (218).

2.1.3.5 Huile d'olive extra-vierge et polyphénols

L'huile d'olive extra-vierge est la source principale de lipides dans le régime méditerranéen et sa consommation diminue l'incidence et le risque de récurrence d'infarctus du myocarde (219) et le risque d'AVC (220). De plus, l'ajout d'EVOO à une alimentation saine diminue les risques de tels évènements et diminue les taux de mortalité d'origine cardiovasculaire et d'autres origines (194, 221).

L'huile d'olive extra-vierge est riche en acides oléiques de la famille des MUFA. Les MUFA mènent à la sécrétion de chylomicrons qui sont plus rapidement métabolisés que ceux issues de la consommation de SFA et sont donc associés à un effet hypertriglycéridémique moins important que les SFA (175).

En plus de sa composition lipidique intéressante, l'EVOO est aussi une source importante de polyphénols aux propriétés pléiotropes. Les polyphénols (aussi présents dans les fruits et légumes, les noix, le vin rouge, le thé et le café) favoriseraient les processus cataboliques limitant la prise de poids, amélioreraient le contrôle de la glycémie et de la lipémie, diminueraient les niveaux de stress oxydatif et inflammatoire et préviendraient la dysfonction endothéliale (222). En comparaison à de l'huile d'olive raffinée (de plus faible teneur en polyphénols), la consommation quotidienne d'EVOO riche en polyphénols a été associée à des niveaux de HDL et d'antioxydant augmentés et à des niveaux d'acides gras et de LDL oxydés diminués (223). Ce sont d'ailleurs les polyphénols qui sont considérés comme principaux responsables des effets cardioprotecteurs de l'EVOO puisque la composition lipidique des deux huiles évaluées (rafinée vs extra vierge) était identique (224).

2.1.3.6 Poissons et suppléments d'oméga-3

Une des sources importantes de protéines de la diète méditerranéenne sont les poissons et les fruits de mer qui constituent aussi une source importante de PUFA oméga-3, comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA). Les PUFA oméga-3 sont reconnus pour leur capacité à diminuer la synthèse hépatique des triglycérides, la sécrétion de VLDL et la lipogenèse (SREBP-1c) et pour augmenter la β -oxydation (PPAR α). Les PUFA oméga-3 activent aussi directement la LPL ce qui favorise la clairance des lipoprotéines riches en triglycéride et contribue à diminuer la triglycéridémie. De plus, l'hydrolyse des VLDL contenant des PUFA oméga-3 mène à la production de LDL de plus grand volume qui sont moins athérogènes que celles produites suite au métabolisme des SFA (225-229). En plus d'augmenter le ratio PUFA : SFA et donc de contrecarrer les effets néfastes de ces derniers, un apport important en PUFA oméga-3 contribue à diminuer le ratio PUFA oméga-6: oméga-3 ce qui favorise la synthèse d'eicosanoïdes au potentiel inflammatoire moindre (230, 231). De par ces propriétés hypolipémiantes et anti-inflammatoires, les PUFA oméga-3 favorisent le maintien de la fonction endothéliale et sont inversement associés à l'épaisseur de l'IMT (étude MESA) (232). Finalement, ces acides gras auraient des propriétés anti-thrombotiques et anti-arythmiques (231, 233)

Plusieurs études ont démontré une association négative et dose-dépendante entre la consommation de poissons et la prévalence des maladies coronariennes (234-236). Par rapport aux plus faibles consommateurs, les individus consommant plus de cinq portions de poisson par semaine auraient des taux d'AVC et de mortalité cardiovasculaire moins élevés (198, 210). De tels effets cardioprotecteurs n'ont cependant pas été retrouvés suite à la supplémentation en PUFA oméga-3 provenant d'huiles de poisson. En effet, la supplémentation en PUFA oméga-3 n'a pas démontré de bénéfice dans la prévention de la morbidité ni de la mortalité cardiovasculaire chez des individus sains, mais à haut risque de maladies cardiovasculaires (232, 237). L'huile de poisson n'a pas non plus offert de bénéfice significatif dans la prévention de la récurrence d'évènements cardiovasculaires ou de mortalité chez des individus déjà atteints (232, 238). Ces résultats négatifs pourraient s'expliquer par le fait que la majorité des individus évalués dans ces études de supplémentation étaient déjà sous traitement pharmacologique optimal et/ou que leurs dysfonctions métaboliques étaient trop avancées pour que l'ajout de PUFA oméga-3 puisse les renverser. Il est aussi possible que certaines composantes se retrouvant exclusivement dans la chair de poisson et n'étant pas présentes dans les huiles utilisées en

supplémentation aient aussi un rôle cardioprotecteur important (232). L'ajout de poissons et fruits de mer à des habitudes de vie favorisant la prévention de maladies chroniques demeure donc la voie à préconiser dans la prévention cardiovasculaire.

2.1.3.7 Noix et légumineuses

Les noix, surtout ceux de Grenoble, les pacanes et les amandes, sont des sources importantes d'acide alpha-linolénique (ALA), le PUFA oméga-3 d'origine végétale, de fibres, de phytostérols, d' α -tocophérol (forme active de la vitamine E) et de L-arginine, un précurseur du NO (233). La consommation de noix (≥ 140 g/semaine) est associée à une diminution dose-dépendante des risques de maladies coronariennes chez les femmes en santé (étude *Nurse's Health*) (233). De plus, l'ajout de noix à une alimentation saine diminue les risques d'AVC (194, 221).

La consommation (aigüe et chronique) de noix diminue la cholestérolémie, la pression sanguine, le stress oxydant et inflammatoire et améliore la fonction endothéliale (239). Les effets hypolipémiants des noix seraient majoritairement dus aux β -glucanes, présents dans les fibres solubles, qui stimulent l'excrétion des sels biliaires et du cholestérol (240). Les fibres et les phytostérols diminuent aussi l'absorption et la synthèse *de novo* du cholestérol (inhibition de la HMG-CoA réductase) et augmentent la quantité de LDLR hépatique (239). Ces caractéristiques ont comme impact net de diminuer le cholestérol total, les LDL, les ApoB et le ratio cholestérol total : HDL (241).

Les légumineuses, vu leur composition en acides gras insaturés, en fibres et en isoflavones, pourraient aussi avoir des propriétés hypolipémiantes et hypotensives favorisant la sensibilité à l'insuline et le contrôle de la glycémie, mais de plus amples études leur étant consacrées sont requises (198).

2.1.3.8 Fruits et légumes

Les fruits et légumes contiennent des quantités importantes de fibres, de minéraux, de phytonutriments et de vitamines aux propriétés antioxydantes comme l'acide ascorbique (vitamine C), l' α -tocophérol (vitamine E) et la β -carotène (vitamine A).

La consommation de fruits et de légumes est associée à la normalisation de la sensibilité à l'insuline, de la lipémie, de la tension artérielle et de la fonction endothéliale et facilite le

maintien d'un poids santé. Chaque portion quotidienne de fruits et de légumes contribue à diminuer les risques d'évènements coronariens, tandis que celle de fruits diminue aussi les AVC (132, 198). De tels effets bénéfiques ne sont cependant pas observables suite à la supplémentation en vitamines antioxydantes (233). Une étude importante n'a d'ailleurs pas pu démontrer d'effets bénéfiques de la supplémentation en vitamines antioxydantes (vitamine A, C et E) sur les évènements cardiovasculaires ou sur la mortalité de toutes causes (242). Ceci suggère que les bénéfices associés aux fruits et légumes ne proviennent pas seulement de leur contenu en vitamines, mais aussi de leur composition nutritionnelle globale (198).

2.1.3.9 Alcool

La consommation quotidienne d'une quantité modérée de vin rouge caractérise aussi la diète méditerranéenne. Bien que le vin rouge contienne des antioxydants comme le resvératrol (aussi retrouvé dans certains fruits), ce serait l'alcool en lui-même qui offrirait le plus de bénéfices métaboliques. En effet, la consommation régulière d'une quantité modérée d'alcool est reliée à l'élévation des niveaux de HDL et à la diminution de l'IR, de l'inflammation systémique et du fibrinogène (198, 233). L'alcool active aussi la eNOS (243). Conséquemment, une relation inverse est établie entre l'ingestion d'une quantité limitée d'alcool (vin, bière ou spiritueux) et les évènements coronariens (198, 233).

En résumé,

La révolution industrielle qui s'est opérée en Occident au cours du dernier siècle et qui touche maintenant la plupart des pays est en partie en cause dans l'émergence des maladies chroniques et particulièrement des maladies cardiovasculaires. De par sa composition en boissons sucrés et en aliments transformés à faible densité calorique, l'alimentation occidentale encourage un déséquilibre calorique positif et une consommation importante de fructose, d'acides gras saturés et de sodium. Ces caractéristiques sont responsables de l'incidence élevée de facteurs de risque cardiovasculaire et de morbidité et mortalité de causes cardiovasculaires chez des populations adhérant à ce régime.

À l'opposé, le régime méditerranéen qui se caractérise par une consommation plus importante de fibres, d'acides gras monoinsaturés et polyinsaturés oméga-3 et de composés antioxydants, se rapproche de l'alimentation qui prévalait avant la révolution industrielle. Ce régime est d'ailleurs associé à des incidences de morbidité et de mortalité de causes cardiovasculaires plus faibles et à la récurrence d'événements cardiovasculaires diminuée.

2.2 L'impact postprandial d'un repas hypercalorique

Pour mieux comprendre les mécanismes associés aux effets néfastes de l'alimentation typiquement nord-américaine ou, de façon encore plus importante, pour comprendre l'origine des bienfaits cardiovasculaires de l'alimentation méditerranéenne, il est utile de se pencher sur l'effet postprandial d'un repas typique de ces régimes. Cette période, où les mécanismes permettant le maintien de l'homéostasie (métabolique et endothéliale) sont à l'œuvre, est primordiale dans l'apparition (ou non) de facteurs de risque et dans le développement de l'athérosclérose (244). L'étude de cette période nous révèle donc des éléments nouveaux sur la réponse physiologique à un repas que l'étude de l'impact de diètes (comparaison de valeurs à jeun et en homéostasie) ne peut nous révéler (245). La période postprandiale est d'autant plus importante parce qu'elle représente la majorité du temps d'éveil depuis l'industrialisation des habitudes de vie qui a causé l'augmentation de la taille, de la fréquence et du contenu calorique de chaque repas.

Les impacts métaboliques et endothéliaux de repas typiquement nord-américains ont été étudiés à plusieurs reprises. Ce genre de repas, souvent riches en sucres simples et/ou en SFA, ont induit des épisodes hypermétaboliques (i.e. hyperinsulinémie, hyperglycémie et hyperlipémie) et des dysfonctions endothéliales postprandiales transitoires. Cependant, les causes de ces dysfonctions endothéliales et leurs liens avec les épisodes hypermétaboliques demeurent toujours controversées. De plus, le stress oxydatif pourrait jouer un rôle dans ces dysfonctions, mais son importance reste encore méconnue. Finalement, l'influence de la composition nutritionnelle de chaque repas sur les réponses métaboliques et endothéliales postprandiales reste encore méconnue.

Nous proposons d'éclairer ces controverses en passant en revue les études cliniques ayant évalué l'impact de l'ingestion d'une boisson ou d'un repas riche en glucides ou en acides gras sur la fonction endothéliale et sur les niveaux de stress oxydatif (ou de défenses antioxydantes) *in vivo*. Ce recensement de la littérature est présenté dans la section suivante sous forme d'article de revue de la littérature publié dans *Nutrition Research Reviews*.

Globalement, ce premier manuscrit nous a permis de conclure que la consommation de quantités importantes de glucides ou de SFA surcharge les processus métaboliques, ce qui nuit à la fonction endothéliale postprandiale possiblement via l'induction de stress oxydatif. Bien que jamais étudié sous forme de repas complet, l'ajout de composantes typiquement méditerranéennes tels les acides gras insaturés et les composés antioxydants semble prévenir les effets endothéliaux négatifs de repas hautement caloriques et ce, sans avoir d'impact sur l'amplitude des épisodes hypermétaboliques. Ceci suggère que la composition des triglycérides circulants en période postprandiale, et non seulement leur concentration, influence leur impact endothélial et conforte l'hypothèse de l'implication du stress oxydant dans la réponse endothéliale postprandiale. De plus, cette revue de littérature nous a permis de conclure que des altérations endothéliales étaient plus fréquentes et importantes chez des individus présentant déjà des atteintes métaboliques et que l'implication du stress oxydant était plus facilement observable chez ceux-ci.

La réalisation de ce manuscrit nous a permis d'identifier des problématiques toujours présentes dans notre compréhension de la réponse métabolique et endothéliale à des repas de compositions variées et a aidé à la conceptualisation du projet d'étude exposé aux chapitres 3 et 4.

2.2.1 Article de revue de littérature

Le rôle du stress oxydant dans la dysfonction endothéliale postprandiale

The role of oxidative stress in postprandial endothelial function

Sebastien Lacroix^{1,2}, Christine Des Rosiers^{1,2}, Jean-Claude Tardif^{1,3} and Anil Nigam^{1,2,3}

1. Montreal Heart Institute, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada.
2. Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada
3. Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada.

Publié dans Nutrition Research Reviews, 2012; 25 : 288-301

Title: The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction

Author names: Sébastien Lacroix, Christine Des Rosiers, Jean-Claude Tardif and Anil Nigam

Author affiliations:

Sébastien Lacroix, Christine Des Rosiers, Jean-Claude Tardif and Anil Nigam

Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec Canada

Jean-Claude Tardif and Anil Nigam

Faculty of Medicine, Université de Montréal, Quebec, Canada

Sébastien Lacroix, Christine Des Rosiers and Anil Nigam

Department of Nutrition, Université de Montréal, Canada

Abstract: Endothelial dysfunction is a turning point in the initiation and development of atherosclerosis and its complications and is predictive of future cardiovascular events. Ingestion of high-carbohydrate or high-fat meals often results in postprandial hyperglycemia and/or hypertriglyceridemia that may lead to a transient impairment in endothelial function. This review will discuss human studies evaluating the impact of high-carbohydrate and high-fat challenges on postprandial endothelial function as well as the potential role of oxidative stress in such postprandial metabolic alterations. Moreover, this review will differentiate the postprandial endothelial and oxidative impact of meals rich in varying fatty acids types.

Key words: Postprandial hyperglycemia, hypertriglyceridemia, endothelial function and oxidative stress

1. Introduction

The Westernization of dietary patterns has led to the consumption of more transformed food rich in processed sugars, SFA and trans fatty acids, a higher omega-6 to omega-3 PUFA ratio, as well as less fruits, vegetables, fish and grains. Moreover, portion sizes and meal frequencies have increased resulting in people spending considerably more time in the postprandial state, identified as being a critical period for atherosclerotic plaque formation⁽¹⁾. Such dietary patterns and overnutrition are linked to obesity, dyslipidemia and hyperglycemia, all of which contributing to insulin resistance, diabetes, atherosclerosis, hypertension and CVD. Postprandial endothelial dysfunction represents the common link between these events and could involve oxidative stress⁽²⁾. The objective of this review is thus to evaluate the role that oxidative stress plays in the postprandial endothelial events following acute hyperglycemia and hypertriglyceridemia. To meet this objective, we have considered studies evaluating the postprandial impact of oral carbohydrate or fatty acid challenges on *in vivo* oxidative stress and endothelial function in human subjects. Studies evaluating endothelial function by brachial ultrasonography or through markers of endothelial integrity (i.e. adhesion molecules, selectins, von Willebrand factor (vWF), endothelial microparticles (EMP), etc.) were considered.

2. General Background

2.1 Endothelial function

The endothelium lines the inner wall of blood vessels and plays an important role in distributing nutrients and in regulating blood flow, coagulation, inflammation and smooth muscle cell proliferation. It responds to both mechanical stimuli and chemical stimuli mediated that have either vasodilator (i.e. nitric oxide (NO), prostacyclins, etc.) or vasoconstrictor (i.e. angiotensin II, endothelin-1, etc.) effect^(3, 4). Endothelial function is often evaluated by ultrasonography of the brachial artery and is expressed as a percentage of endothelium-dependent vasodilation in response to transient ischemia (flow-mediated dilatation, FMD)^(5, 6). This vasodilatation is principally mediated by NO released from endothelial cells.

Endothelial dysfunction is defined as a reduced response to vasodilatory stimuli and occurs when the normal equilibrium between vasoactive stimuli is disrupted. Endothelial dysfunction also occurs in conjunction with impaired anti-platelet, anti-proliferative and anti-thrombotic activity, transforming the dysfunctional endothelium into a pro-atherogenic environment⁽⁷⁻⁹⁾. Endothelial dysfunction is an early step in the setting of CVD (atherosclerosis, hypertension, myocardial infarction and congestive heart failure) and is linked to conditions predisposing to these diseases: smoking, a sedentary lifestyle, dyslipidemia, obesity, insulin resistance, Type 2 diabetes mellitus (TIIDM) and chronic renal failure^(3, 4). Endothelial dysfunction is thus predictive of future cardiovascular events in healthy subjects⁽¹⁰⁻¹²⁾ and patients with pre-existing CVD^(4, 13, 14, 9) and was identified as the “ultimate risk factor” for CVD⁽¹⁵⁾.

2.2 Pathophysiology of oxidative stress

In an aerobic state, biological systems utilize oxygen for the majority of processes (i.e. energy substrate oxidation), which inevitably result in the formation of reactive oxygen species (ROS). Major cellular sources of ROS are the mitochondrial electron transport chain, which specifically produces superoxide anions⁽¹⁶⁻¹⁸⁾, and the enzyme NADPH oxidase (the main ROS producing enzyme in the vasculature)⁽¹⁹⁾. In addition to physiological processes, ROS can be increased by lifestyle habits (i.e. smoking, sedentariness or physical activity), diseases (i.e. diabetes and obesity) and nutritional choices (i.e. high caloric, glycemic and/or fat diets and meals); the latter being the focus of this review^(2, 18). In fact, according to current literature, excessive dietary intake of carbohydrates or fatty acids lead to increased oxidative stress levels either directly, since meals often include oxidized nutrients, or through activation of mitochondrial metabolism^(17, 20). The latter process begins with postprandial hyperglycemia and hypertriglyceridemia, which overload the mitochondrial electron transport chain resulting in increased production of ROS^(21, 17, 20). Glucose and some fatty acids (notably SFA) can also directly activate the ROS producing NADPH oxidase⁽²²⁾. When produced in excess of antioxidant capacity, ROS lead to oxidative stress⁽²³⁾, which has been defined as an “imbalance between oxidants and antioxidants in favor of oxidants, potentially leading to cellular and tissue damage”⁽¹⁷⁾. Oxidative stress is thought to be one of the underlying causes of aging (24) and many important conditions including Parkinson’s⁽²⁵⁾ and

Alzheimer's diseases⁽²⁶⁾, insulin resistance, metabolic syndrome, TIIDM^(27, 21, 2, 28) and atherosclerosis and its complications^(21, 2).

In endothelial cells, superoxide anions produced in excess along with NO can rapidly react to form highly unstable peroxynitrite^(29-31, 20) or inhibit endothelial and inducible NO synthase (eNOS and iNOS respectively) resulting in decreased NO bioavailability⁽³²⁾. Therefore, a NO paradox exists whereby the actions of NO are mediated by its concentration and by the redox state of the environment in which it is secreted^(29, 20). Dysregulated oxidative stress is therefore believed to play a major role in the development of endothelial dysfunction^(33, 7, 34, 17). Oxidative stress can also induce endothelial activation resulting in the release of intracellular adhesion molecules (ICAM), vascular cell adhesion molecules (VCAM), selectins and EMP that are cytotoxic to endothelial cells, impair NO production and lead to further dysfunction^(33, 23, 31). These events are also involved in pro-inflammatory processes.

3. Postprandial endothelial function and oxidative stress: Overview of human studies

3.1 Hyperglycemia-induced oxidative stress and endothelial dysfunction

Diabetes, impaired glucose tolerance (IGT) and even hyperglycemia that is well below the diagnostic threshold for diabetes are invariably associated with atherosclerosis and poorer cardiovascular outcomes suggesting an impact of hyperglycemia on endothelial function^(35, 36). Moreover, postprandial hyperglycemia was deemed an important and independent risk factor for CVD in TIIDM⁽³⁷⁾ and healthy subjects⁽³⁸⁾. This and the fact that the diabetic population have increased oxidant and lowered antioxidant levels^(39, 2) was the premise for the hypothesis that oxidative stress links postprandial hyperglycemia and endothelial dysfunction.

3.1.1 Postprandial impact of oral carbohydrate challenges in healthy subjects

The endothelial and oxidative impact of oral carbohydrate challenges has been investigated by several groups, which are detailed in Table 1. Oral carbohydrate challenges were defined as high-carbohydrate meals (>65% total meal calories from carbohydrates⁽⁴⁰⁾) and oral glucose tolerance test (OGTT) although the later does not represent a physiological situation but rather a commonly used method for the evaluation of glucose metabolism and insulin

resistance. Of these, Ceriello et al. were among the first to show decreased postprandial endogenous antioxidants levels (sulphydryl groups, uric acid and vitamin C and E) and plasma antioxidant capacity (i.e. plasma total antioxidant content; TRAP method) following an OGTT ⁽³⁹⁾ and to observe increased markers of endothelial damage (ICAM) in healthy and T1DM individuals ⁽⁴¹⁾. Similar observations regarding increased endothelial activation markers were also made following OGTT ^(42, 43). Recently, Watanabe et al. and many others observed that an OGTT significantly decreased endothelial function assessed by ultrasonography that was correlated with postprandial hyperglycemia ($r = -0.61$, $p < 0.05$) and insulin release ($r = -0.55$, $p < 0.05$) ⁽⁴⁴⁾. Importantly, some groups have observed no demonstrable increases in postprandial oxidative stress (Malondialdehyde (MDA), Nitrate/Nitrite and hydrogen peroxide levels) or decreases in plasma antioxidant capacity (i.e. ferric reducing capacity; FRAP method) or endothelial dysfunction in healthy men following acute glucose or maltodextrin oral loads ^(45-47, 43).

Studies in which markers of oxidative stress and endothelial function were not measured simultaneously (Table 1) must be interpreted with caution, as they cannot establish a link of causality between these two phenomena. In contrast, studies listed in Table 2 did indeed evaluate both phenomena together and are thus better suited to establish a potential causal link between hyperglycemia-induced oxidative stress and postprandial endothelial impairment. Ceriello et al. observed increased oxidative product levels (nitrotyrosine) along with endothelial activation (ICAM, VCAM and E-selectin) following an OGTT ⁽³³⁾. An OGTT was also associated with lowered postprandial endothelial function and correlated ($r = -0.80$, $p < 0.05$) with increased lipid peroxidation (MDA) ⁽⁴⁸⁾. Acute hyperglycemic load was also associated with lower total plasma antioxidant capacity (FRAP method), vitamin C and arginine (a precursor of NO) levels, consistent with increased postprandial oxidative stress ⁽⁴⁸⁾.

Other studies have evaluated the impact of the co-ingestion or infusion of antioxidants with high-carbohydrate challenges. Ceriello et al. found that administration of glutathione or pre-treatment with statins (having antioxidant properties ⁽⁴⁹⁾) during an OGTT abolished its oxidative stress-raising and endothelial-impairing properties in healthy and T1DM

individuals^(50, 41, 51). Title et al. also observed that an OGTT led to attenuated postprandial endothelial function, which was prevented by co-administration of the antioxidant vitamins C and E⁽⁵²⁾. Xiang et al. demonstrated that infusion of α -lipoic acid with a standard OGTT prevented lipid peroxidation (i.e. thiobarbituric acid reactive substances; TBARS) and the associated decrease in flow-mediated dilatation otherwise observed following the OGTT alone⁽⁵³⁾. It is noteworthy that the presence of antioxidants did not influence the extent of postprandial hyperglycemia and supports the hypothesis that oxidative stress links acute hyperglycemia to impaired postprandial endothelial function and integrity.

Similarly, the postprandial impact of high-carbohydrate challenges was also investigated in individuals with impaired glucose metabolism such as IGT or T1DM (results shown in tables 1 and 2). These studies uniformly demonstrated in such populations that high-carbohydrate challenges elevate oxidative stress markers and impair endothelial function to a more prolonged or important extent^(50, 51, 42, 54-56, 43). For instance, Kawano et al. observed significant postprandial elevations in TBARS and attenuated FMD of the brachial artery following an OGTT in subjects with IGT and T1DM while healthy controls were not significantly affected by such challenge⁽⁵⁴⁾. Xiang et al. observed similar findings in subjects with IGT and, like Kawano et al., observed a positive correlation between postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction^(54, 53).

In summary, a strong causative link between acute hyperglycemia, postprandial oxidative stress and endothelial function in healthy subjects cannot be established due to the lack of studies correlating these events concomitantly. However, since antioxidant co-ingestion prevents deleterious oxidative and endothelial events following an oral glucose load, it is tempting to hypothesize that acute hyperglycemia induces the formation of oxidative species impairing endothelial function. Establishing a causal link could be facilitated in higher-risk individuals with impaired glucose metabolism, in which elevated baseline oxidative levels (or impaired antioxidant mechanisms) could potentially accentuate postprandial insults, making them more easily detectable⁽²⁾.

3.2 Hypertriglyceridemia induced oxidative stress and endothelial dysfunction

Postprandial but not fasting hypertriglyceridemia is associated with an increased risk of atherosclerosis and is now considered an important risk factor for CVD^(57, 58). Since dietary fatty acids are a good source of oxidized/oxidizable lipids and can lead to activation of mitochondrial metabolism and to formation of ROS, it has been proposed that oxidative stress could link postprandial hypertriglyceridemia to vascular damage^(9, 20). The second part of this review will discuss the postprandial impact of acute ingestion of high quantities of different types of fatty acids. High-fatty acids challenges were defined as fatty acid loads/meals providing more than 45% of total calories from fat, which has been recognised as the minimal quantity leading to observable oxidative and endothelial modifications⁽²⁰⁾.

3.2.1 Postprandial impact of high-saturated fat meals

High-saturated fat meals (HSFAM), defined as meals providing more than 10% of total daily calories from SFA (i.e. ≥ 7 g of SFA/meal, based on a 3-meal and 2000 kcal day)⁽⁵⁹⁾, have often been investigated for their hypertriglyceridemic properties and their potential postprandial oxidative and endothelial impairing properties (table 3). The majority of these experiments highlighted a significant impairment of postprandial endothelial function following a HSFAM⁽⁶⁰⁻⁶⁶⁾. Notably, Vogel et al. and Plotnick et al., in what are recognized today as landmark studies, showed a correlation between the magnitude of postprandial hypertriglyceridemia and the degree of endothelial function impairment^(65, 66). Some also noted that a HSFAM led to increased EMP release or to increase in vWF and P-selectin⁽⁶⁷⁻⁷⁰⁾. Others evaluated the impact of HSFAM-induced hypertriglyceridemia on markers of oxidative stress. The majority of these investigations observed increased postprandial oxidative stress or impaired plasma antioxidant capacity through multiple different markers^(45, 71-74). Postprandial hypertriglyceridemia was found to correlate significantly with plasma TBARS ($r = 0.336$, $p < 0.05$)⁽⁷³⁾. These data allow one to conclude that a HSFAM induces transient but significant hypertriglyceridemia that impairs endothelial function and increases oxidative stress and/or lowers antioxidant defenses⁽²⁰⁾. However, such studies do not allow the establishment of a firm causal link between postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction⁽²⁰⁾.

Table 4 details studies investigating the impact of a HSFAM on endothelial function along with oxidative stress markers. On top of confirming previous observations in which endothelial function was impaired and oxidative stress was increased following a HSFAM, the majority of these studies correlated postprandial hypertriglyceridemia, oxidative stress and/or endothelial function. Of these, Bae et al. correlated ($r=0.78$, $p<0.001$) elevated ROS production to endothelial impairments following a HSFAM in healthy subjects ⁽⁷⁵⁾.

Tushuizen et al. also reported a borderline inverse correlation between postprandial MDA production and endothelial function ($r = -0.52$, $p<0.059$) in healthy subjects ⁽⁷⁶⁾. Spallarasso et al. demonstrated that a HSFAM induced activation of myeloperoxidase resulting in a significant elevation in ROS levels, which correlated positively with advanced oxidation protein product ($r=0.75$, $p=0.005$) and a loss of endothelial integrity (increased sCD146, $r=0.49$, $p=0.065$ and MMP-9 $r=0.53$, $p<0.05$) ⁽⁷⁷⁾.

Individuals with higher cardiovascular risk (i.e. IGT, TIIDM and subjects with familial history of TIIDM) were also included in some investigations that consistently observed more important and prolonged postprandial hypertriglyceridemia, oxidative stress and/or endothelial dysfunction following a HSFAM ^(78-80, 50, 51, 61, 72, 81, 47, 82, 83, 73). Anderson et al. showed that postprandial TBARS were correlated ($r=0.72$, $p=0.008$) with decreased endothelial function only in TIIDM ⁽⁷⁹⁾. Nappo et al. showed that postprandial hyperglycemia, hypertriglyceridemia and impaired endothelial injuries (increased ICAM and VCAM) were greater in TIIDM individuals, while Madec et al. correlated such events with increased oxidative products (nitrotyrosine; $r=0.54$, $p=0.0015$) in individuals with familial history of TIIDM ^(84, 47).

Some investigators also added antioxidant vitamins or compounds to HSFAM to study the oxidative stress induced postprandial endothelial impairment hypothesis (tables 3 and 4). Notably, it was demonstrated that co-ingestion of antioxidant vitamin C and/or E or pre-treatment with antioxidant compounds (e.g. fruit juices or Angiotensin-converting enzyme inhibitors) with an HSFAM prevented postprandial endothelial dysfunction ^(85, 86, 65). Vitamin C and E co-ingestion with an HSFAM also attenuated postprandial endothelial activation evaluated by ICAM and VCAM ⁽⁴⁷⁾. Ventura et al. showed that the addition of red wine to

HSFAM reduces postprandial oxidative stress and improves plasma antioxidant potential, observations that were corroborated in a recent review by Covas et al. ^(87, 74). Burton-Freeman et al. observed that the addition of tomato extract to a HSFAM prevented an increase in oxLDL and marginally ameliorated postprandial endothelial function in comparison to a HSFAM alone ⁽⁸⁸⁾. Finally, a 3-day vitamin C supplementation in individuals with T1DM attenuated postprandial endothelial alterations and correlated ($r=0.42$, $p=0.04$) with lowered ROS production ⁽⁷⁸⁾.

It is noteworthy that the addition of antioxidants in the aforementioned studies did not influence the magnitude of postprandial triglyceride excursion. As such, their protective effects do not appear to be due to effects on triglyceride metabolism. Rather, they appear to attenuate postprandial hypertriglyceridemia-induced oxidative stress in response to a HSFAM, resulting in lesser endothelial damage. Addition of omega-3 PUFA to a HSFAM also appears to prevent postprandial endothelial dysfunction independently of the magnitude of hypertriglyceridemia ^(89, 60, 90). Although such investigations are sparse, the effect of co-ingestion of omega-3 PUFA could be related to improved postprandial NO bioavailability through activation of eNOS ^(89, 60, 90).

3.2.2 Postprandial impact of high-monounsaturated or polyunsaturated fat meals and challenges

Fatty acid types other than SFA may variably influence postprandial endothelial and oxidative processes. Table 5 lists studies performed with meals rich in MUFA and PUFA. High-monounsaturated fat meals (HMFAM) are defined as meals providing > 20% of calories from MUFA (≥ 15 g of MUFA and < 5g SFA based on a 3-meal and 2000 kcal day) ⁽⁵⁹⁾. For example, Vogel et al. found that 50g of olive oil on bread impaired postprandial endothelial function while others observed that meals rich in MUFA had neutral effects on endothelial function ⁽⁹¹⁻⁹⁴⁾. Although oxidative stress markers were not measured, Vogel et al. found that co-ingestion of vitamin C and E or balsamic vinegar (antioxidant) prevented postprandial endothelial injury, which again suggests a role for oxidative stress ⁽⁹³⁾. In contrast, meals with significant amounts of high-oleic safflower oil improved endothelial function in T1DM individuals ⁽⁹⁵⁾. These data suggest that HMFAM may have neutral to

beneficial postprandial properties in TIIDM while having neutral to detrimental properties in healthy subjects. Alternatively, the observed differences may reflect differing quantities and sources of MUFAs used.

The acute impact of meals containing omega-3 PUFA or large amounts of omega-6 PUFA (HPUFAM), defined as meals providing > 9% of calories from omega-6 PUFA (≥ 7 g of omega-6 PUFA based on a 3-meal and 2000 kcal day), has also been investigated and yields conflicting results⁽⁹⁶⁾. The ingestion of a meal consisting of canned salmon (6g omega-3 PUFA) or the addition of either marine or vegetable sources of omega-3 PUFA to a HPUFAM had no significant impact on postprandial endothelial function^(83, 97, 93, 95). In contrast, the addition of a large quantity of EPA (8.3g) to a high-fat meal lowered postprandial oxidative stress (improved NO bioavailability) and decreased arterial stiffness⁽⁹⁸⁾. Meals containing high amounts of omega-6 PUFA from safflower^(99, 94), soybean^(100, 97) or corn⁽⁹⁷⁾ oils have also been evaluated. Safflower oil had a neutral effect on postprandial endothelial function and was associated with decreased markers of endothelial activation^(99, 94). Meals rich in soybean oil impaired postprandial endothelial-dependent vasodilatation in one instance⁽¹⁰⁰⁾ and improved hyperemic forearm blood flow (a marker of endothelial-dependent function) in another⁽⁹⁷⁾. On the opposite, corn oil was shown to impair forearm blood flow⁽⁹⁷⁾.

3.2.3 Summary

In summary, a single HSFAM is associated with a concomitant increase in postprandial oxidative stress (or decrease in antioxidant protection) and a decrease in endothelial function (or triggered endothelial activation). The causal relationship between these phenomena appears tenuous based upon data in healthy individuals but data from studies in higher risk individuals is stronger. This could represent the compounding effect of multiple fasting metabolic dysregulations (e.g. hyperglycemia, dyslipidemia and insulin resistance) and lower antioxidant mechanisms resulting in prolonged hypertriglyceridemia, elevated postprandial oxidative burden and greater endothelial derangements^(79, 39, 101, 82). Some high-risk individuals, being insulin resistant, might also be resistant to the insulin-mediated vasodilatation exacerbating their postprandial endothelial dysfunction⁽¹⁰²⁾. Studies

combining meals rich in carbohydrate and SFA also suggest that hyperglycemia and hypertriglyceridemia have additive effects on endothelial and oxidative processes ^(50, 51). Similar postprandial events could be present in healthy subjects but with lesser magnitude and duration owing to more effective metabolic and antioxidant mechanisms making such events harder to observe and thus correlate ⁽⁷⁹⁾. Previously described investigations done with antioxidant compounds give us insight and add weight to support a role for oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction.

In addition to inter-individual differences in oxidative and endothelial systems, differences in fatty acid absorption and clearance could also contribute to making postprandial responses heterogeneous, weakening correlations. Different components of test meals such as protein, fibre or antioxidants (i.e. polyphenol contents of olive oils) and different sources and thus types of fatty acids (i.e. animal vs. vegetable sources of SFA) could also explain discrepancies between studies ⁽¹⁰³⁾. The postprandial impact of meals rich in MUFA and/or PUFA is less clear and reflect that SFA:MUFA:PUFA ratio are important in determining postprandial oxidative and endothelial properties of test meals.

4. Concluding remarks

Postprandial hyperglycemia and hypertriglyceridemia induced by high-carbohydrate or high-SFA intake lead to increased postprandial oxidative stress and impaired endothelial function in the majority of cases (schematic representation provided in figure 1), while high-MUFA or PUFA intakes have more controversial effects. We believe that oxidative stress has a role to play in postprandial endothelial dysfunction but that inter-individual differences contributed to the attenuation of statistical correlation between parameters, particularly in healthy subjects.

One limitation common to most studies is the use of biomarkers assessing different mechanisms taking place in different cellular or biological compartments that might not be relevant to postprandial processes. Wallace et al. covered this topic in a previous publication and concluded that MDA, oxLDL and TBARS are probably unsuitable biomarkers for postprandial studies ⁽²⁰⁾. In our opinion, markers specifically reflecting the impact of oxidative

stress on endothelial processes (MPO, NADPH oxidase, nitrotyrosine⁽¹⁰⁴⁾, NOx, Asymmetric dimethylarginine; ADMA⁽¹⁰⁵⁾) will need to be prioritized in future studies. Different fatty acid types might not affect the endothelium by the same mechanisms and could require different biomarkers to be evaluated properly⁽¹⁰²⁾. One way to control for interindividual differences in fatty acid absorption and metabolism would be to characterize postprandial plasma fatty acids (and antioxidants when co-administered) and perform analysis controlled for plasma fatty acid profiles. It is also possible that low-CVD risk populations could not be the most suitable cohorts for mechanistic studies barring their low baseline oxidative stress levels, effective antioxidant and metabolic processes and normal endothelial function compared to higher risk individuals. Standardization of oral fat challenges (i.e. standardized homogenous oral fat load) as was done with OGTT might also need to be implemented to facilitate the understanding of postprandial mechanisms linked to certain fatty acids families. However, complete meals reflecting real-life situations must also be performed and would provide insight into the cardioprotective mechanism of certain dietary patterns.

Acknowledgments

Funding

No funding was provided to support this review.

Declaration of interest

The authors have no relevant interests to declare.

Contribution of each author

Sebastien Lacroix is the principal author of this manuscript, while the remaining authors reviewed and commented on the manuscript.

References

1. Zilversmit DB (1979) Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* **60**, 473-485.
2. Ceriello A, Motz E (2004) Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24**, 816-823.
3. Beckman JA. Endothelial Dysfunction. Diabetes and Cardiovascular Disease. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
4. Endemann DH, Schiffrin EL (2004) Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* **15**, 1983-1992.
5. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, *et al.* (1995) Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* **26**, 1235-1241.
6. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, *et al.* (2011) Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**, H2-12.
7. de Koning EJ, Rabelink TJ (2002) Endothelial function in the post-prandial state. *Atheroscler Suppl* **3**, 11-16.
8. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* **362**, 801-809.
9. Versari D, Daghini E, Viridis A, *et al.* (2009) Endothelial dysfunction as a target for prevention of cardiovascular disease. *Diabetes Care* **32 Suppl 2**, S314-321.
10. Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, *et al.* (2011) Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation* **123**, 163-169.
11. Shechter M, Issachar A, Marai I, *et al.* (2009) Long-term association of brachial artery flow-mediated vasodilation and cardiovascular events in middle-aged subjects with no apparent heart disease. *Int J Cardiol* **134**, 52-58.
12. Witte DRWJ, de Konin EJ, van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML (2005) Is the association between flow-mediated vasodilation and cardiovascular risk limited to low-risk population? *J Am Coll Cardiol* **45**, 1987-1993.
13. Green DJ, Jones H, Thijssen D, *et al.* (2011) Flow-mediated dilation and cardiovascular event prediction: does nitric oxide matter? *Hypertension* **57**, 363-369.
14. Shechter M, Marai I, Marai S, *et al.* (2007) The association of endothelial dysfunction and cardiovascular events in healthy subjects and patients with cardiovascular disease. *Isr Med Assoc J* **9**, 271-276.
15. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A (2003) Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **23**, 168-175.
16. Griending KK, FitzGerald GA (2003) Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* **108**, 1912-1916.
17. Sies H, Stahl W, Sevanian A (2005) Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* **135**, 969-972.
18. Victor VM, Rocha M, Sola E, *et al.* (2009) Oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Curr Pharm Des* **15**, 2988-3002.

19. Forstermann (2006) Endothelial NO synthase as a source of NO and superoxide. *Eur J Clin Pharmacol* **62**, 5-12.
20. Wallace JP, Johnson B, Padilla J, *et al.* (2010) Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *Int J Clin Pract* **64**, 389-403.
21. Ceriello A (2008) Cardiovascular effects of acute hyperglycaemia: pathophysiological underpinnings. *Diab Vasc Dis Res* **5**, 260-268.
22. Le Guennec JY, Jude S, Besson P, *et al.* (2010) Cardioprotection by omega-3 fatty acids: involvement of PKCs? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **82**, 173-177.
23. Stocker R, Keaney JF, Jr. (2004) Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* **84**, 1381-1478.
24. Arutiunian AV, Kozina LS (2009) [Mechanisms of free radical oxidation and its role in aging]. *Adv Gerontol* **22**, 104-116.
25. Jenner P (2003) Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol* **53 Suppl 3**, S26-36; discussion S36-28.
26. Mattsson N, Blennow K, Zetterberg H (2009) CSF biomarkers: pinpointing Alzheimer pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* **1180**, 28-35.
27. Brownlee M (2005) The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* **54**, 1615-1625.
28. Rebolledo OR, Actis Dato SM (2005) Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **9**, 191-208.
29. Irani K (2000) Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival : a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ Res* **87**, 179-183.
30. O'Donnell VB, Freeman BA (2001) Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways: implications for vascular disease. *Circ Res* **88**, 12-21.
31. Ursini F, Sevanian A (2002) Postprandial oxidative stress. *Biol Chem* **383**, 599-605.
32. Sun J, Druhan LJ, Zweier JL (2010) Reactive oxygen and nitrogen species regulate inducible nitric oxide synthase function shifting the balance of nitric oxide and superoxide production. *Arch Biochem Biophys* **494**, 130-137.
33. Ceriello A, Quagliaro L, Piconi L, *et al.* (2004) Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes* **53**, 701-710.
34. Nitenberg A, Cosson E, Pham I (2006) Postprandial endothelial dysfunction: role of glucose, lipids and insulin. *Diabetes Metab* **32 Spec No2**, 2S28-33.
35. DeFronzo RA, Abdul-Ghani M (2011) Assessment and treatment of cardiovascular risk in prediabetes: impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Am J Cardiol* **108**, 3B-24B.
36. O'Keefe JH, Gheewala NM, O'Keefe JO (2008) Dietary strategies for improving postprandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol* **51**, 249-255.
37. Cavalot F, Pagliarino A, Valle M, *et al.* (2011) Postprandial blood glucose predicts cardiovascular events and all-cause mortality in type 2 diabetes in a 14-year follow-up: lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study. *Diabetes Care* **34**, 2237-2243.
38. Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, *et al.* (1999) The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care* **22**, 233-240.

39. Ceriello A, Bortolotti N, Crescentini A, *et al.* (1998) Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest* **28**, 329-333.
40. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, *et al.* (2002) Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc* **102**, 1621-1630.
41. Ceriello A, Falletti E, Motz E, *et al.* (1998) Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res* **30**, 146-149.
42. Derosa G, D'Angelo A, Salvadeo SA, *et al.* (2010) Oral glucose tolerance test effects on endothelial inflammation markers in healthy subjects and diabetic patients. *Horm Metab Res* **42**, 8-13.
43. Yngen M, Ostenson CG, Li N, *et al.* (2001) Acute hyperglycemia increases soluble P-selectin in male patients with mild diabetes mellitus. *Blood Coagul Fibrinolysis* **12**, 109-116.
44. Watanabe K, Oba K, Suzuki T, *et al.* (2011) Oral glucose loading attenuates endothelial function in normal individual. *Eur J Clin Invest* **41**, 465-473.
45. Bloomer RJ, Kabir MM, Marshall KE, *et al.* (2010) Postprandial oxidative stress in response to dextrose and lipid meals of differing size. *Lipids Health Dis* **9**, 79.
46. Fisher-Wellman KH, Bloomer RJ (2010) Lack of effect of a high-calorie dextrose or maltodextrin meal on postprandial oxidative stress in healthy young men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **20**, 393-400.
47. Nappo F, Esposito K, Cioffi M, *et al.* (2002) Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol* **39**, 1145-1150.
48. Mah E, Noh SK, Ballard KD, *et al.* (2011) Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. *J Nutr* **141**, 1961-1968.
49. Davignon J, Jacob RF, Mason RP (2004) The antioxidant effects of statins. *Coron Artery Dis* **15**, 251-258.
50. Ceriello A, Assaloni R, Da Ros R, *et al.* (2005) Effect of atorvastatin and irbesartan, alone and in combination, on postprandial endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic patients. *Circulation* **111**, 2518-2524.
51. Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, *et al.* (2002) Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation* **106**, 1211-1218.
52. Title LM, Cummings PM, Giddens K, *et al.* (2000) Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J Am Coll Cardiol* **36**, 2185-2191.
53. Xiang GD, Sun HL, Zhao LS, *et al.* (2008) The antioxidant alpha-lipoic acid improves endothelial dysfunction induced by acute hyperglycaemia during OGTT in impaired glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf)* **68**, 716-723.
54. Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, *et al.* (1999) Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* **34**, 146-154.

55. Sampson M, Davies I, Gavrilovic J, *et al.* (2004) Plasma matrix metalloproteinases, low density lipoprotein oxidisability and soluble adhesion molecules after a glucose load in Type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* **3**, 7.
56. Serin O, Konukoglu D, Firtina S, *et al.* (2007) Serum oxidized low density lipoprotein, paraoxonase 1 and lipid peroxidation levels during oral glucose tolerance test. *Horm Metab Res* **39**, 207-211.
57. Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, *et al.* (2011) Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol* **9**, 258-270.
58. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, *et al.* (2011) Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* **123**, 2292-2333.
59. FAO/WHO, (2008) Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition; Geneva.
60. Fahs CA, Yan H, Ranadive S, *et al.* (2010) The effect of acute fish-oil supplementation on endothelial function and arterial stiffness following a high-fat meal. *Appl Physiol Nutr Metab* **35**, 294-302.
61. Fard A, Tuck CH, Donis JA, *et al.* (2000) Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**, 2039-2044.
62. Gokce N, Duffy SJ, Hunter LM, *et al.* (2001) Acute hypertriglyceridemia is associated with peripheral vasodilation and increased basal flow in healthy young adults. *Am J Cardiol* **88**, 153-159.
63. Marchesi S, Lupattelli G, Schillaci G, *et al.* (2000) Impaired flow-mediated vasoactivity during post-prandial phase in young healthy men. *Atherosclerosis* **153**, 397-402.
64. Padilla J, Harris RA, Fly AD, *et al.* (2006) The effect of acute exercise on endothelial function following a high-fat meal. *Eur J Appl Physiol* **98**, 256-262.
65. Plotnick GD, Corretti MC, Vogel RA (1997) Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA* **278**, 1682-1686.
66. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD (1997) Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol* **79**, 350-354.
67. Ferreira AC, Peter AA, Mendez AJ, *et al.* (2004) Postprandial hypertriglyceridemia increases circulating levels of endothelial cell microparticles. *Circulation* **110**, 3599-3603.
68. Harrison M, Murphy RP, O'Connor PL, *et al.* (2009) The endothelial microparticle response to a high fat meal is not attenuated by prior exercise. *Eur J Appl Physiol* **106**, 555-562.
69. Lin CC, Tsai WC, Chen JY, *et al.* (2008) Supplements of L-arginine attenuate the effects of high-fat meal on endothelial function and oxidative stress. *Int J Cardiol* **127**, 337-341.
70. Strohacker K, Breslin WL, Carpenter KC, *et al.* (2012) Moderate-intensity, premeal cycling blunts postprandial increases in monocyte cell surface CD18 and CD11a and endothelial microparticles following a high-fat meal in young adults. *Appl Physiol Nutr Metab* **37**, 530-539.

71. Fisher-Wellman KH, Bloomer RJ (2010) Exacerbated postprandial oxidative stress induced by the acute intake of a lipid meal compared to isoenergetically administered carbohydrate, protein, and mixed meals in young, healthy men. *J Am Coll Nutr* **29**, 373-381.
72. Gregersen S, Samocha-Bonet D, Heilbronn LK, *et al.* (2012) Inflammatory and oxidative stress responses to high-carbohydrate and high-fat meals in healthy humans. *J Nutr Metab* **2012**, 238056.
73. Saxena R, Madhu SV, Shukla R, *et al.* (2005) Postprandial hypertriglyceridemia and oxidative stress in patients of type 2 diabetes mellitus with macrovascular complications. *Clin Chim Acta* **359**, 101-108.
74. Ventura P, Bini A, Panini R, *et al.* (2004) Red wine consumption prevents vascular oxidative stress induced by a high-fat meal in healthy volunteers. *Int J Vitam Nutr Res* **74**, 137-143.
75. Bae JH, Bassenge E, Kim KB, *et al.* (2001) Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis* **155**, 517-523.
76. Tushuizen ME, Nieuwland R, Scheffer PG, *et al.* (2006) Two consecutive high-fat meals affect endothelial-dependent vasodilation, oxidative stress and cellular microparticles in healthy men. *J Thromb Haemost* **4**, 1003-1010.
77. Spallarossa P, Garibaldi S, Barisione C, *et al.* (2008) Postprandial serum induces apoptosis in endothelial cells: Role of polymorphonuclear-derived myeloperoxidase and metalloproteinase-9 activity. *Atherosclerosis* **198**, 458-467.
78. Anderson RA, Evans LM, Ellis GR, *et al.* (2006) Prolonged deterioration of endothelial dysfunction in response to postprandial lipaemia is attenuated by vitamin C in Type 2 diabetes. *Diabet Med* **23**, 258-264.
79. Anderson RA, Evans ML, Ellis GR, *et al.* (2001) The relationships between postprandial lipaemia, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* **154**, 475-483.
80. Ayer JG, Harmer JA, Steinbeck K, *et al.* (2010) Postprandial vascular reactivity in obese and normal weight young adults. *Obesity (Silver Spring)* **18**, 945-951.
81. Johnson BD, Padilla J, Harris RA, *et al.* (2011) Vascular consequences of a high-fat meal in physically active and inactive adults. *Appl Physiol Nutr Metab* **36**, 368-375.
82. Neri S, Calvagno S, Mauceri B, *et al.* (2010) Effects of antioxidants on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Eur J Nutr* **49**, 409-416.
83. Pears KS, Wolff AC, Olsen SJ, *et al.* (2011) Coordination of care in breast cancer survivors: an overview. *J Support Oncol* **9**, 210-215.
84. Madec S, Corretti V, Santini E, *et al.* (2011) Effect of a fatty meal on inflammatory markers in healthy volunteers with a family history of type 2 diabetes. *Br J Nutr* **106**, 364-368.
85. Ling L, Zhao SP, Gao M, *et al.* (2002) Vitamin C preserves endothelial function in patients with coronary heart disease after a high-fat meal. *Clin Cardiol* **25**, 219-224.
86. Neri S, Signorelli SS, Torrisi B, *et al.* (2005) Effects of antioxidant supplementation on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction: a single-blind, 15-day clinical trial in patients with untreated type 2 diabetes, subjects with impaired glucose tolerance, and healthy controls. *Clin Ther* **27**, 1764-1773.
87. Covas MI, Gambert P, Fito M, *et al.* (2010) Wine and oxidative stress: up-to-date evidence of the effects of moderate wine consumption on oxidative damage in humans. *Atherosclerosis* **208**, 297-304.

88. Burton-Freeman B, Talbot J, Park E, *et al.* (2012) Protective activity of processed tomato products on postprandial oxidation and inflammation: a clinical trial in healthy weight men and women. *Mol Nutr Food Res* **56**, 622-631.
89. Armah CK, Jackson KG, Doman I, *et al.* (2008) Fish oil fatty acids improve postprandial vascular reactivity in healthy men. *Clin Sci (Lond)* **114**, 679-686.
90. Newens KJ, Thompson AK, Jackson KG, *et al.* (2011) DHA-rich fish oil reverses the detrimental effects of saturated fatty acids on postprandial vascular reactivity. *Am J Clin Nutr* **94**, 742-748.
91. Raitakari OT, Lai N, Griffiths K, *et al.* (2000) Enhanced peripheral vasodilation in humans after a fatty meal. *J Am Coll Cardiol* **36**, 417-422.
92. Tentolouris N, Arapostathi C, Perrea D, *et al.* (2008) Differential effects of two isoenergetic meals rich in saturated or monounsaturated fat on endothelial function in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **31**, 2276-2278.
93. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD (2000) The postprandial effect of components of the Mediterranean diet on endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **36**, 1455-1460.
94. Williams MJ, Sutherland WH, McCormick MP, *et al.* (2001) Normal endothelial function after meals rich in olive or safflower oil previously used for deep frying. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **11**, 147-152.
95. West SG, Hecker KD, Mustad VA, *et al.* (2005) Acute effects of monounsaturated fatty acids with and without omega-3 fatty acids on vascular reactivity in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia* **48**, 113-122.
96. (2008) Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition; Geneva.
97. Tousoulis D, Papageorgiou N, Antoniadis C, *et al.* (2010) Acute effects of different types of oil consumption on endothelial function, oxidative stress status and vascular inflammation in healthy volunteers. *Br J Nutr* **103**, 43-49.
98. Hall WL, Sanders KA, Sanders TA, *et al.* (2008) A high-fat meal enriched with eicosapentaenoic acid reduces postprandial arterial stiffness measured by digital volume pulse analysis in healthy men. *J Nutr* **138**, 287-291.
99. Nicholls SJ, Lundman P, Harmer JA, *et al.* (2006) Consumption of saturated fat impairs the anti-inflammatory properties of high-density lipoproteins and endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **48**, 715-720.
100. Rueda-Clausen CF, Silva FA, Lindarte MA, *et al.* (2007) Olive, soybean and palm oils intake have a similar acute detrimental effect over the endothelial function in healthy young subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **17**, 50-57.
101. Frayn KN (2002) Insulin resistance, impaired postprandial lipid metabolism and abdominal obesity. A deadly triad. *Med Princ Pract* **11 Suppl 2**, 31-40.
102. Song GY, Gao Y, Di YW, *et al.* (2006) High-fat feeding reduces endothelium-dependent vasodilation in rats: differential mechanisms for saturated and unsaturated fatty acids? *Clin Exp Pharmacol Physiol* **33**, 708-713.
103. Hall WL (2009) Dietary saturated and unsaturated fats as determinants of blood pressure and vascular function. *Nutr Res Rev* **22**, 18-38.
104. Ceriello A (2002) Nitrotyrosine: new findings as a marker of postprandial oxidative stress. *Int J Clin Pract Suppl* 51-58.

105. Siervo M, Corander M, Stranges S, *et al.* (2011) Post-challenge hyperglycaemia, nitric oxide production and endothelial dysfunction: the putative role of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **21**, 1-10.
106. Lewandowski KC, Banach E, Bienkiewicz M, *et al.* (2011) Matrix metalloproteinases in type 2 diabetes and non-diabetic controls: effects of short-term and chronic hyperglycaemia. *Arch Med Sci* **7**, 294-303.
107. Lee IK, Kim HS, Bae JH (2002) Endothelial dysfunction: its relationship with acute hyperglycaemia and hyperlipidemia. *Int J Clin Pract Suppl* 59-64.
108. Djousse L, Ellison RC, McLennan CE, *et al.* (1999) Acute effects of a high-fat meal with and without red wine on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol* **84**, 660-664.
109. Giannattasio C, Zoppo A, Gentile G, *et al.* (2005) Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**, 406-410.
110. MacEneaney OJ, Harrison M, O'Gorman DJ, *et al.* (2009) Effect of prior exercise on postprandial lipemia and markers of inflammation and endothelial activation in normal weight and overweight adolescent boys. *Eur J Appl Physiol* **106**, 721-729.
111. Devaraj S, Wang-Polagruto J, Polagruto J, *et al.* (2008) High-fat, energy-dense, fast-food-style breakfast results in an increase in oxidative stress in metabolic syndrome. *Metabolism* **57**, 867-870.
112. Williams MJ, Sutherland WH, McCormick MP, *et al.* (1999) Impaired endothelial function following a meal rich in used cooking fat. *J Am Coll Cardiol* **33**, 1050-1055.
113. Bae JH, Schwemmer M, Lee IK, *et al.* (2003) Postprandial hypertriglyceridemia-induced endothelial dysfunction in healthy subjects is independent of lipid oxidation. *Int J Cardiol* **87**, 259-267.
114. Cortes B, Nunez I, Cofan M, *et al.* (2006) Acute effects of high-fat meals enriched with walnuts or olive oil on postprandial endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **48**, 1666-1671.
115. Rudolph TK, Ruempler K, Schwedhelm E, *et al.* (2007) Acute effects of various fast-food meals on vascular function and cardiovascular disease risk markers: the Hamburg Burger Trial. *Am J Clin Nutr* **86**, 334-340.
116. Berry SE, Tucker S, Banerji R, *et al.* (2008) Impaired postprandial endothelial function depends on the type of fat consumed by healthy men. *J Nutr* **138**, 1910-1914.
117. Tsai WC, Li YH, Lin CC, *et al.* (2004) Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. *Clin Sci (Lond)* **106**, 315-319.
118. Jenkins NT, Landers RQ, Thakkar SR, *et al.* (2011) Prior endurance exercise prevents postprandial lipaemia-induced increases in reactive oxygen species in circulating CD31+ cells. *J Physiol* **589**, 5539-5553.
119. Ong PJ, Dean TS, Hayward CS, *et al.* (1999) Effect of fat and carbohydrate consumption on endothelial function. *Lancet* **354**, 2134.

Illustrations

Figure 1. Schematic representation of oxidative and endothelial postprandial events induced by acute hyperglycemia or hypertriglyceridemia and reference numbers of studies reporting such events.

ICAM, Intracellular adhesion molecule, VCAM, Vascular cell adhesion molecule, vWF, von Willebrand factor, HSFAM, High-saturated fat meal, ROS, Reactive oxygen species, eNOS, Endothelial nitric oxide synthase, NO, Nitric oxide, VSMC, Vascular smooth muscle cell

Red arrows represent negative effects or impairments

* studies reporting significant correlation ($p < 0.05$) between oxidative and endothelial parameters

Tables

Table 1. Studies evaluating the impact of postprandial hyperglycemia on markers of oxidative stress or endothelial function.

Authors	Study population	Intervention	Postprandial oxidative stress	Postprandial endothelial function	Comments
Ceriello et al. (1998) ⁽⁴¹⁾	7 HS 9 TIIDM	OGTT (75g glucose)	NA	↗ICAM	More important for TIIDM Prevented by GSH admin.
Yngen et al. (2001) ⁽⁴³⁾	11 HS	OGTT (75g glucose)	NA	= P-selectin and vWF	
Yngen et al. (2001) ⁽⁴³⁾	11 TIIDM	OGTT (75g glucose)	NA	↗ P-selectin = vWF	
Nappo et al (2002) ⁽⁴⁷⁾	20 HS	High-CHO meal (144g of CHO, 75% E)	NA	= ICAM, VCAM	
Derosa et al. (2010) ⁽⁴²⁾	256 HS 274 TIIDM	OGTT (75g glucose)	NA	↗ICAM, VCAM and e-selectin	More important for TIIDM
Watanabe et al. (2011) ⁽⁴⁴⁾	25 HS	OGTT (75g glucose)	NA	↘FMD	
Lewandowski et al. (2011) ⁽¹⁰⁶⁾	32 HS	OGTT (75g glucose)	NA	↘MMP-9 = MMP-2	
Ceriello et al.	10 HS	OGTT (75g	↘plasma	NA	More important

(1998) ⁽³⁹⁾	10 TIIDM	glucose)	antioxidants and TRAP	for TIIDM
Serin et al. (2007) (56)	35 HS	OGTT (75g glucose)	= TBARS	NA
Serin et al. (2007) (56)	25 IGT 20 TIIDM	OGTT (75g glucose)	↗ TBARS and oxLDL ↘ PON1	NA
Fisher-Wellman et al. (2010) ^(71, 46)	10 HS	2.25g glucose or maltodextrin / kg of body mass	= MDA, NO _x , FRAP and H ₂ O ₂	NA
Bloomer et al. (2010) ⁽⁴⁵⁾	9 HS	OGTT (75 or 150g)	= MDA and H ₂ O ₂	NA
Gregersen et al. (2012) ⁽⁷²⁾	7 HS 8 HS with FHD	High-CHO meal (182.7g CHO, 76% E)	↘ plasma antioxidant capacity, SOD	NA

HS, Healthy subjects, TIIDM, Type-2 diabetes mellitus, OGTT, Oral glucose tolerance test, NA, Not available, ICAM, Intracellular adhesion molecule, GSH, Glutathione, vWF, von Willebrand factor, CHO, Carbohydrates, E, Energy, VCAM, Vascular cell adhesion molecule, FMD, Flow-mediated dilatation, MMP, Matrix metalloproteinase, TRAP, total radical trapping antioxidant potential, TBARS, Thiobarbituric acid reactive substances, oxLDL, oxidized low-density lipoproteins, PON1, Paraoxonase 1, MDA, Malondialdehyde, NO_x, Nitrate/Nitrite, FRAP, Ferric-reducing ability of plasma, FHD, Familial history of diabetes, SOD, Superoxide dismutase
= unchanged

Table 2. Studies evaluating the link between oxidative stress and endothelial function induced by postprandial hyperglycemia.

Authors	Study population	Intervention	Postprandial oxidative stress	Postprandial endothelial function	Comments
Kawano et al. (1999) ⁽⁵⁴⁾	17 HS	OGTT (75g glucose)	= TBARS	= FMD	
Kawano et al. (1999) ⁽⁵⁴⁾	24 IGT 17 TIIDM	OGTT (75g glucose)	↗ TBARS*	↘ FMD*	
Title et al. (2000) ⁽⁵²⁾	10 HS	OGTT (75g glucose) ± vitamin C (2g) and E (800IU)	= MDA, GSH, GSHPx and SOD	↘ FMD	Prevented by vitamin C/E co-ingestion
Lee et al. (2002) ⁽¹⁰⁷⁾	11 TIIDM	OGTT (75g glucose)	↗ Superoxide	↘ FMD	Prevented by vitamin E
Ceriello et al. (2002) ⁽⁵¹⁾	30 TIIDM	OGTT (75g glucose)	↗ NT	↘ FMD	Prevented by statin pre-treatment
Ceriello et al. (2004) ⁽³³⁾	20 HS	OGTT (75g glucose)	↗ NT	↗ ICAM, VCAM and e-selectin ↘ ICAM and e-selectin	
Sampson et al. (2004) ⁽⁵⁵⁾	20 HS	OGTT (75g glucose)	= oxLDL	= VCAM and MMP	
Sampson et al. (2004) ⁽⁵⁵⁾	21 TIIDM	OGTT (75g glucose)	= oxLDL	↘ ICAM, VCAM and e-selectin	

				= MMP	
Ceriello et al. (2005) ⁽⁵⁰⁾	20 TIIDM	OGTT (75g glucose)	↗ NT	↘ FMD ↗ ICAM	Prevented by statin pre-treatment
Xiang et al. (2008) ⁽⁵³⁾	42 IGT	OGTT (75g glucose) ± 300mg α-lipoic acid	↗ TBARS*	↘ FMD*	Attenuated by α- lipoic acid
Mah et al (2011) ⁽⁴⁸⁾	16 HS	OGTT (75g glucose)	↗ MDA* and ADMA ↘ FRAP, vitamin C and arginine	↘ FMD *	ADMA inhibits NO production

HS, Healthy subjects, TBARS, Thiobarbituric acid reactive substance, FMD, Flow-mediated dilatation, IGT: Impaired glucose tolerance, TIIDM, Type-2 diabetes mellitus, OGTT, Oral glucose tolerance test, MDA, Malondialdehyde, GSH, Glutathione, GSHPx, Glutathione peroxidase, SOD, Superoxide dismutase, NT, Nitrotyrosine, ICAM, Intracellular adhesion molecule, VCAM, Vascular cell adhesion molecule, oxLDL, oxidized low-density lipoproteins, MMP, Matrix metalloproteinase, ADMA, asymmetric dimethylarginine, FRAP, Ferric-reducing ability of plasma

= unchanged

* significant correlation

Table 3. Studies evaluating the impact of postprandial hypertriglyceridemia induced by oral high-saturated fat challenges on markers of oxidative stress or endothelial function.

Authors	Population	Fat composition (% calories from fat)	Absolute postprandial TG variation (mmol/L)	Postprandial oxidative stress	Postprandial endothelial function	Comments
Vogel et al. (1997) ⁽⁶⁶⁾	10 HS	14g SFA 50% E	1.85*	NA	⬇FMD*	
Plotnick et al. (1997) ⁽⁶⁵⁾	20 HS	14g SFA 50% E	0.6*	NA	⬇FMD*	Prevented by co-ingestion of vitamin C and E
Djousse et al. (1999) ⁽¹⁰⁸⁾	13 HS	0.5g SFA/kg 48% E	1.0	NA	=FMD	Not affected by red wine
Fard et al. (2000) ⁽⁶¹⁾	50 TIIDM	52g SFA 75% E	3.38	NA	⬇FMD* ↗ ADMA*	ADMA inhibits NO production
Marchesi et al. (2000) ⁽⁶³⁾	10 HS	40g SFA /m ² 84% E	0.72*	NA	⬇FMD*	
Raitakari et al. (2000)	12 HS	55g SFA		NA	= FMD	Could be

(91)		53% E	1.0				explained by increase baseline artery diameter
Gokce et al. (2001) ⁽⁶²⁾	14 HS	27g SFA 47% E	0.78*	NA	↘FMD*		
Nappo et al. (2002) ⁽⁴⁷⁾	20 HS 20 TIIDM	20g SFA 60% E	0.4 (HS)* 1.5 (TIIDM)*	NA	↗ ICAM and VCAM (both group)*		Vitamin C and E co-ingestion attenuated endothelial injuries More imp. for CHD,
Ling et al. (2002) ⁽⁸⁵⁾	50 HS 74 CHD	5g SFA 56% E	1.0 (HS)* 1.4 (CHD)*	NA	↘FMD*		Prevented by vitamin C co- ingestion
Ferreira et al. (2004) ⁽⁶⁷⁾	18 HS	14g SFA 50% E	0.58*	NA	↗EMP*		
Giannattasio et al. (2005) ⁽¹⁰⁹⁾	7 HS 16 HTG	83% E	0.30 (HS) 2.47 (HTG)*	NA	= FBF and FMD (HS) ↘FMD (HTG)*		
Padilla et al. (2006)	8 HS	16.5g SFA	NA	NA	=FMD		Increased

(64)		46% E					baseline artery diam.
Nicholls et al. (2006) (99)	14 HS	1g/kg coco oil (89.6% SFA)	0.31	NA	↘FMD ↗ ICAM and VCAM		
Rueda-Clausen et al. (2007) ⁽¹⁰⁰⁾	10 HS	26g SFA 91% E	0.12	NA	↘FMD		
Harrison et al. (2009) (68)	8 HS	≈ 60g SFA 60% E	1.45	NA	↗EMP		
MacEneaney et al. (2009) ⁽¹¹⁰⁾	10 HS 8 obese	≈ 60g SFA 60% E	0.95 HS 1.25 obese	NA	= ICAM and VCAM		
Ayer et al. (2010) ⁽⁸⁰⁾	11 HS 11 obese	25g SFA 54% E	1.1 (HS) 1.0 (obese)	NA	= FMD (both group)		
Fahs et al. (2010) ⁽⁶⁰⁾	20 HS	13.5g SFA 47% E	NA	NA	↘ normalized FMD	Prevented by addition of 540mg EPA and 360mg DHA	
Strohacker et al. (2012) ⁽⁷⁰⁾	8 HS	18.5g SFA 59% E	0.90	NA	↗EMP		
Ventura et al. (2004) (74)	15 HS	14g SFA 50% E	0.96	↗MDA, uric acid	NA	Red wine ameliorated	

				↓ plasma antioxidant		oxidative profile More important for TIIDM
Saxena et al. (2005) (73)	13 HS 13 TIIDM	61g SFA/kg 81% E	0.29 (HS)* 1.24 (TIIDM)*	↑ TBARS*, SOD, GSH	NA	
Devaraj et al. (2008) (111)	11 MetS	15.5g SFA 50% E	1.02	↑ TBARS, MDA, HNE, peroxide ↑ MDA*, H ₂ O ₂ *, NO _x *	NA	
Fisher-Wellman et al. (2010) (71)	10 HS	0.6g SFA/kg 1g of fat/kg	0.40*	= plasma antioxidant capacity	NA	
Bloomer et al. (2010) (45)	9 HS	20 or 40g SFA 100% E	0.28 (33g SFA) 0.85 (40g SFA)*	↑ MDA and H ₂ O ₂ (for 40g SFA only)*	NA	
Gregersen et al. (2012) (72)	7 HS 8 HS with FHD	27g SFA 76% E	1.1	= plasma antioxidant capacity, SOD	NA	

HS: Healthy subjects, SFA, Saturated fatty acid, E, Energy, NA, Not available, FMD, Flow-mediated dilatation, ACE, Angiotensin-converting enzyme, TIIDM, Type 2 diabetes mellitus, ADMA, asymmetric dimethylarginine, ICAM, Inter-cellular adhesion molecule, VCAM, vascular cell adhesion molecule, CHD, Chronic heart disease, HTG, Hypertriglyceridemia, FBF,

Forearm blood flow, EMP, Endothelial microparticules, MDA, Malondialdehyde, TBARS, Thiobarbituric acid reactive substance, SOD, Superoxide dismutase, GSH, Glutathione, MetS, Metabolic syndrome, HNE, hydroxynonenal, NOx, Nitrate/Nitrite, FHD, Familial history of type II diabetes mellitus = unchanged * significant correlation

Table 4. Studies evaluating the link between oxidative stress and endothelial function induced by oral high-saturated fat challenges.

Authors	Population	Fat composition (% calories from fat)	Absolute postprandial TG variation (mmol/L)	Postprandial oxidative stress	Postprandial endothelial function	Comments
Williams et al. (1999) ⁽¹¹²⁾	10 HS	30g SFA 65%E (used or unused oil)	1.29 (unused) 0.82 (used)	= TBARS, lipid peroxidation	= FMD (unused) ⬇FMD (used)	Oil used for deep-frying contained peroxides, no correlation found
Bae et al. (2001) ⁽⁷⁵⁾	11 HS	53.4g SFA 60% E	0.59 **	⬆ ROS production*,**	⬇FMD*,**	
Anderson et al. (2001) ⁽⁷⁹⁾	12 HS 12 TIIDM	80g SFA	0.87 (HS) 5.6 (TIIDM)*	⬆TBARS* and ROS production	⬇FMD*	Significant correlation only in TIIDM Prolonged for TIIDM, no correlation calculated
Ceriello et al. (2002) ⁽⁵¹⁾	20 HS 30 TIIDM	47g SFA 96% E		= NT (HS) ⬆ NT (TIIDM)	⬇FMD	
Bae et al. (2003) ⁽¹¹³⁾	10 HS	60% E	0.68*	= MDA and	⬇FMD*	Unknown SFA

				vitamin E		quantity
Ceriello et al. (2005) (50)	20 TIIDM	47g SFA 96% E	2.0	↗ NT and ICAM	↘ FMD	No correlations calculated Vitamin C suppl. prevented increased ROS and decreased FMD (correl.)
Anderson et al. (2006) (78)	20 TIIDM	80g SFA 80% E	0.9*, **	↗ ROS production** and TBARS	↘ FMD*	
Tushuizen et al. (2006) (76)	17 HS	30g SFA 52% E	0.9**	↗ oxLDL/LDL** and MDA*	↘ FMD* ↗ EMP	
Cortès et al. (2006) (114)	12 HS 12 HC	47g SFA + OO or walnut (ALA and arginine) 63% E	0.93 (HS) 1.37 (HC) Similar for both meals	↘ oxLDL (both meals)	↘ FMD (OO) = FMD (walnut) ↘ ICAM and VCAM (both meals) ↘ e-selectin (walnut)	No correlations found
Rudolph et al. (2007) (115)	24 HS	13.1g SFA 37% E	0.47	↗ 8-isoPGF	↘ FMD	No significant correlation

Spallarasso et al. (2008) ⁽⁷⁷⁾	15 HS	30g SFA 78% E	0.33*	↗ MPO, ROS* and AOPP*,**	↗ sCD146 and MMP-9**	found
Armah et al. (2008) ⁽⁸⁹⁾	25 HS	33g SFA 48%E	1.04	↘ Nitrite = eNOS and Nox-4 gene expression	= endothelial vasodilatation to Ach and SNP	Improved by addition of 2.2g EPA and 3.2 DHA
Berry et al. (2008) ⁽¹¹⁶⁾	17 HS	26.7g SFA 53% E	0.40	↘ isoprostane	↘FMD	No correlations found
Lin et al. (2008) ⁽⁶⁹⁾	20 HS	14g SFA 50% E	0.50*	= GSHPx	↘FMD* ↗P-selectin and vWF	Prevented by L-Arg co- ingestion Oxidation and FMD are
Tsai et al. (2009) ⁽¹¹⁷⁾	16 HS	14g SFA 51% E	1.41	↘GSHPx ↗PGF2	↘FMD = ICAM, VCAM	associated but no correlation calculated
Neri et al. (2005 and 2010) ^(82, 86)	40 HS 40 IGT 40 TIIDM	80g SFA 49% E	0.68 (HS) 2.9 (IGT) 4.8 (TIIDM)*	↗ MDA, HNE, oxLDL, GSHPx	↘ FMD* ↗ET-1, vWF, VCAM	More imp. for IGT and TIIDM and

					↘ NO	prevented by antioxidants
Madec et al. (2011) ⁽⁸⁴⁾	16 HS 16 HS with FHD	14.25g SFA 52% E	0.16 (HS) 0.26 (FHD)**	↗ NT*	↗ ICAM*/VCAM**	In FHD only
Newens et al. (2011) ⁽⁹⁰⁾	59 HS	0.52g of fat/kg 64% SFA	No significant increase	↘ NO _x	↘ FMD = ICAM and ET-1	3.8g DHA and 0.4 EPA improved FMD but not NO _x
Jenkins et al. (2011) ⁽¹¹⁸⁾	10 HS	30g SFA 84% E	0.68	↗ ROS, oxLDL and SOD	= EMP	No significant correlation found
Johnson et al. (2011) ⁽⁸¹⁾	7 active HS 7 inactive HS	16.5g SFA 46% E	1.08 (active) 4.08 (inactive)	= TBARS and SOD	↘ FMD only for inactive HS	No significant correlation found
Peairs et al. (2011) ⁽⁸³⁾	11 obese	59% E	0.23	↘ PG-F2	↗ ICAM = VCAM	Unknown SFA quantity, No significant correlation

Burton-Freeman et al. (2012) ⁽⁸⁸⁾	29 HS	14g SFA 46% E	0.62*	↗ oxLDL	= FMD*	found Tomato extract prevented oxLDL increase
---	-------	------------------	-------	---------	--------	---

HS: Healthy subjects, SFA, Saturated fatty acid, E, Energy, TBARS, Thiobarbituric acid reactive substance, FMD, Flow-mediated dilatation, ROS, Reactive oxygen species, TIIDM, Type 2 diabetes mellitus, NT, Nitrotyrosine, MDA, Malondialdehyde, ICAM, Inter-cellular adhesion molecule, oxLDL, oxidized LDL, EMP, Endothelial microparticules, HC, Hypercholesterolemia, OO, Olive oil, ALA, Alpha-linolenic acid, VCAM, vascular cell adhesion molecule, PG-F2, Prostaglandin F2, MPO, Myeloperoxidase, ROS, Reactive oxygen species, AOPP, Advanced oxidation protein product, sCD146, cell-cell adhesion molecule, MMP, matrix metalloproteinase, eNOS, endothelial nitric oxide synthase, Ach, Acetylchole, SNP, Sodium nitropruside, GSHPx, Glutathione peroxidase, vWF, von Willebrand factor, L-Arg, L-Arginine, IGT, Impaired glucose tolerance, HNE, hydroxynonenal, ET-1, Endothelin-1, NO, Nitric oxide, FHD, Familial history of type II diabetes mellitus, NOx, Nitrate/Nitrite
= unchanged * or ** significant correlation

Table 5. Studies evaluating the link between oxidative stress and endothelial function induced by oral high-monounsaturated or polyunsaturated fat challenges.

Authors	Population	Fat composition (% calories from fat)	Absolute postprandial TG variation (mmol/L)	Postprandial oxidative stress	Postprandial endothelial function	Comments
Ong et al. (1999) ⁽¹¹⁹⁾	16 HS	38g MUFA 59% E 50g FA from OO, CO,	2.4	NA	↘ FMD	
Vogel et al. (2000) ⁽⁹³⁾	10 HS	salmon, OO+vit E/C and OO + vinegar 50% E	similar for 5 meals (from 0.2 to 42mg)*	NA	↘ FMD (OO)* = FMD (4 other meals)	
Rueda- Clausen et al. (2007) ⁽¹⁰⁰⁾	10 HS	46.2g MUFA (OO) 31,7g PUFA (soy) 91% E	0.28 (OO) 0.15 (soy)	NA	↘ FMD (both meals)	No significant correlation found
Raitakari et al. (2000) ⁽⁹¹⁾	12 HS	97g MUFA 53% E	1.2	NA	= FMD	Could be explained by increase baseline artery diameter

Nicholls et al. (2006) ⁽⁹⁹⁾	14 HS	0.75g/kg PUFA omega-6	0.52	NA	= FMD ↘ ICAM and VCAM	No correlation calculated
Williams et al. (2001) ⁽⁹⁴⁾	14 HS	40g MUFA (OO) 44g PUFA omega-6 (SO) 69%E	0.80 OO 0.55 SO	NA	= FMD for both meals	No correlation calculated
West et al. (2005) ⁽⁹⁵⁾	18 TIIDM	32g MUFA ± ALA or EPA/DHA 72% E	1.06 (MUFA)* 0.81 (ALA)* 0.81 (EPA/DHA)*	NA	↗ FMD for 3 meals*	
Tentolouris et al. (2008) ⁽⁹²⁾	33 TIIDM	48g MUFA 58%E	NA	NA	= FMD	
Berry et al. (2008) ⁽¹¹⁶⁾	17 HS	42.5g MUFA 53%E	0.45	↗ isoprostane	↘ FMD	No significant correlation found
Hall et al. (2008) ⁽⁹⁸⁾	17 HS	43.6 MUFA ± 8.3g EPA	1.29 for both meals	No change for MUFA ↘ NOx (EPA) ↗ isoprostane (EPA)	= Arterial stiffness index (MUFA) ↘ Arterial stiffness index	No significant correlation found

(EPA)						
Tousoulis et al. (2010) (97)	37 HS	70g MUFA (OO), 55g omega-6 (corn), 1.6g omega-3 (Cod) 55g omega-6 (Soy)	NA	= lipid peroxidation	= RH (OO) ↘ RH (corn) ↗ RH (cod and soy)	No significant correlation found
Peairs et al. (2011) (83)	11 obese	OO ± 2.4g EPA and 1.6g DHA 59% E	0.97 (OO) 0.79 (OO + omega-3)	↗ Nf-kB (omega-3) ↘ PG-F2 (2 meals)	= ICAM and VCAM (both meals)	Unknown MUFA quantity, no significant correlation found

HS, Healthy subjects, E, Energy, NA, Not available, FMD, Flow-mediated dilatation, OO, Olive oil, CO, Corn oil, ICAM, Inter-cellular adhesion molecule, VCAM, vascular cell adhesion molecule, SO, Safflower oil, TIIDM, Type II diabetes mellitus, ALA, Alpha-linolenic acid, NOx, Nitrate/Nitrite, RH, Reactive hyperemic forearm blood flow, Nf-kB, redox sensitive nuclear transcription factor kB, PG-F2, Prostaglandin F2

= unchanged * significant correlation

CADRE CLINIQUE

**Effet d'un repas méditerranéen sur la fonction endothéliale postprandiale en
comparaison à un repas riche en acides gras saturés.**

The Fat And EndoThelial FuncTion (FATT) Trial

3. Objectifs et hypothèses

3.1 Problématiques

Quatre grandes problématiques ont été abordées dans ce programme de recherche:

1) Jusqu'à maintenant, plusieurs études ont démontré une préservation ou même une amélioration de la fonction endothéliale suivant la consommation chronique d'une diète méditerranéenne, mais l'effet endothélial et métabolique d'un seul repas méditerranéen complet et représentatif de l'alimentation méditerranéenne habituelle n'a jamais été évalué. Les groupes s'étant penchés sur la période postprandiale l'ont fait en évaluant l'impact de composantes méditerranéennes prises individuellement et souvent ingérées sous forme de boissons de lait frappé, ne représentant pas les habitudes méditerranéennes courantes (246). De plus, ces groupes n'ont pas souvent pu reproduire les effets bénéfiques associées à la diète complète (247).

Ces observations soulignent qu'une approche holistique, maintenant préconisée en nutrition, évaluant la synergie entre les différentes composantes méditerranéennes (fibres, acides gras insaturés et antioxydants) potentiellement responsables des propriétés cardioprotectrices de ce régime serait souhaitable.

C'est donc dans cette optique que nous proposons d'étudier l'impact d'un seul repas méditerranéen complet sur la fonction endothéliale et métabolique en période postprandiale.

2) Comme on l'a vu dans le premier chapitre de cette thèse, la fonction microvasculaire est modulée par plusieurs facteurs de risque cardiovasculaire et par la modification des habitudes de vie. Cependant, l'impact de repas de différentes natures sur la fonction microvasculaire postprandiale est mal connu puisque très rarement étudié.

Pour combler les lacunes dans la compréhension de ce système vasculaire, nous proposons l'évaluation de la fonction microvasculaire par NIRS suivant l'ingestion des deux repas à l'étude. La reproductibilité intra-sujet et inter-observateurs de cette méthode sera aussi évaluée pour la première fois.

3) L'article de revue détaillé précédemment nous a permis d'établir que la relation entre l'impact de l'amplitude des hypertriglycéridémies postprandiales sur les dysfonctions endothéliales reste encore controversée. Le présent projet propose donc de préciser ce point en caractérisant la composition des acides gras plasmatiques. Cette évaluation nous permettra donc de tenir compte des différences interindividuelles d'absorption et de métabolisme lipidique qui ne le sont pas lors de la simple mesure de la triglycéridémie. Ultimement, ceci nous permettra de mieux comprendre le lien entre la composition des lipoprotéines circulantes en période postprandiale et la fonction endothéliale.

4) Finalement, l'article de revue nous a permis de conclure qu'une part des controverses toujours présentes dans l'étude du lien entre le stress oxydatif (et inflammatoire) et la réponse endothéliale postprandiale était probablement due au mauvais choix de biomarqueurs. Nous proposons donc l'utilisation de marqueurs d'inflammation et de stress oxydatif plus sensibles et plus spécifiques aux événements endothéliaux et qui amélioreront notre évaluation du rôle de ces derniers dans les événements endothéliaux postprandiaux.

3.2 Objectifs

L'objectif principal de ce programme d'étude est :

- l'évaluation de l'impact d'un seul repas méditerranéen complet (*Mixed Mediterranean meal*, MMM) sur la fonction endothéliale macrovasculaire postprandiale par échographie brachiale en comparaison à un seul repas riche en SFA (*High-saturated fatty acid meal*, HSFAM).

Les objectifs secondaires de ce programme d'étude sont l'évaluation de l'impact de ces deux repas à l'étude sur:

- les paramètres métaboliques traditionnels (glycémie, insulinémie et profil lipidique).
- la fonction endothéliale microvasculaire évaluée par NIRS.
- la composition en acides gras plasmatiques.
- les niveaux d'inflammation évalués à l'aide de la protéine C réactive hautement sensible (hs-CRP) et de l'IL-6.
- les niveaux de stress oxydatif évalués à l'aide de la MPO

Nous évaluerons aussi l'influence des habitudes alimentaires et du niveau de forme physique sur la réponse endothéliale aux deux repas à l'étude.

3.3 Hypothèses

Nous prévoyons:

- qu'un repas méditerranéen unique n'aura pas d'effet délétère sur la fonction endothéliale (macro et microvasculaire) postprandiale en comparaison à un repas riche en SFA.
- qu'un repas méditerranéen unique engendrera des déséquilibres métaboliques postprandiaux de moindre importance qu'un repas riche en SFA.
- qu'un repas méditerranéen unique engendrera un stress oxydatif et inflammatoire postprandiale moindre qu'un repas riche en SFA.
- que l'adhésion à des habitudes alimentaires proches de la diète méditerranéenne et qu'une bonne forme physique permettront de prévenir les effets délétères d'un repas riche en SFA.

4. Méthodologie

4.1 Population étudiée

Vingt-huit (28) hommes sains, sans maladies cardiovasculaires et sans facteurs de risque cardiovasculaire ont été recrutés au Centre de médecine préventive et d'activité physique (ÉPIC) de l'Institut de cardiologie de Montréal (ICM) selon les critères suivants :

Critères d'inclusion

1. Sexe masculin
2. Âgé entre 18 et 50 ans
3. Absence de symptômes cardiovasculaires et épreuve d'effort normal
4. Consentement éclairé donné et formulaire de consentement signé

Critères d'exclusion

1. Présence de maladies vasculaires athérosclérotiques (maladie coronarienne, maladie cérébrovasculaire ou maladie vasculaire périphérique)
2. Tabagisme actif ou dans les derniers 12 mois
3. Hypertension artérielle (tension artérielle $\geq 140/90$ mmHg)
4. Dyslipidémie (LDL-C > 3.5 mmol/L)
5. Diabète de type I ou II
6. Insuffisance cardiaque
7. Dysfonction ventriculaire gauche (fraction d'éjection $< 40\%$)
8. Obésité abdominale (tour de taille ≥ 102 cm)
9. Insuffisance rénale (clairance de créatinine < 90 ml/min)
10. Intolérance à la nitroglycérine
11. Allergies alimentaires à toutes composantes présentes dans un des deux repas à l'étude
12. Infection aiguë
13. Éthylisme chronique ou abus éthylique dans les derniers 12 mois
14. Toxicomanie ou abus de drogues dans les derniers 12 mois

15. Prise de suppléments de PUFA oméga-3 dans les trois derniers mois
16. Prise de vitamine C dans les deux dernières semaines
17. Toute autre condition qui, dans l'opinion de l'investigateur, pourrait compromettre la participation du sujet à ce protocole

Nous avons recruté exclusivement des hommes pour limiter les variations du métabolisme lipidique et de la fonction endothéliale liées aux variations hormonales associées au cycle menstruel (248). Nous avons aussi limité l'âge des sujets recrutés à 50 ans, pour éviter les effets négatifs du vieillissement sur la synthèse du NO, sur les défenses antioxydantes et donc sur la fonction endothéliale (248). Nous avons aussi proscrit les maladies et les facteurs de risque cardiovasculaire et les infections aiguës, pour éliminer le potentiel effet confondant que ces conditions pourraient avoir sur les évaluations endothéliales et métaboliques effectuées.

4.2 Devis expérimental

Cet essai clinique randomisé a suivi un devis chassé-croisé où une moitié (n = 14) des sujets a consommé le HSFAM en premier suivi du MMM tandis que l'autre moitié (n = 14) a suivi l'ordre contraire.

4.2.1.1 Visite de sélection

La visite de sélection consistait à l'explication du protocole de recherche et à obtenir la signature du consentement éclairé. La mesure du tour de taille, de la taille, du poids corporel, du pourcentage de graisse corporelle et la prise d'un échantillon sanguin pour l'évaluation du taux de glucose sérique, d'insuline et de créatinine sérique de même que le profil lipidique ont aussi été complétées durant cette visite. Le bilan sanguin a été effectué seulement chez les candidats n'ayant pas subi de telles évaluations dans les trois mois précédant le recrutement. Suite à cette visite, les candidats rencontrant les critères de sélection ont été randomisés à l'une des deux séquences d'étude.

4.2.1.2 Visite 1 (1^{er} repas)

Au cours de la première visite d'étude, les sujets randomisés se présentaient au Centre ÉPIC de l'ICM après avoir suivi un jeûne de 12 heures et sans avoir pris de boissons

alcoolisées ni fait d'efforts physiques ayant mené à la transpiration dans les 24 heures précédentes. À leur arrivée, un bilan sanguin était complété pour l'évaluation des paramètres suivants : 1) bilan lipidique complet, 2) glucose sérique, 3) insuline sérique, 4) hémoglobine glyquée et 5) hs-CRP. Du sang et du plasma étaient aussi conservés à -80°C pour analyses subséquentes de biomarqueurs de stress oxydatif, d'inflammation et pour caractérisation des acides gras plasmatiques. Suivant ce prélèvement sanguin, la fonction endothéliale et la fonction microvasculaire étaient évaluées simultanément par échographie brachiale et par NIRS respectivement.

Suite à l'échographie brachiale, les participants ont consommé un des deux repas à l'étude en moins de 15 minutes. Deux heures et quatre heures (\pm 15 minutes) suivant la consommation du repas à l'étude, le prélèvement sanguin et l'évaluation de la fonction endothéliale macro et microvasculaire étaient répétés. Au cours des périodes d'attente, la consommation d'aliments solides, de boissons autres que de l'eau et la pratique d'activités physiques étaient proscrites.

4.2.1.3 Visite 2 (2^e repas)

Suite à une période d'au moins sept jours, une deuxième visite avec des procédures identiques, mais cette fois en changeant la nature du repas consommé était effectuée.

4.3 Compositions des repas à l'étude

Les deux repas à l'étude étaient isocaloriques et avaient des quantités totales d'acides gras, de glucides, de protéines et de sodium similaires. Seule la composition en acides gras (notamment SFA et PUFA oméga-3) et les sources de glucides et de protéines différaient. Le HSFAM était constitué d'un œuf McMuffin® avec saucisse et fromage et de trois pommes de terre brunes (McDonald's Inc). Le MMM était constitué de saumon frais aux amandes et pesto, servi avec pommes de terre cuites avec la peau, tomates cerise et fèves vertes. Ce dernier repas était préparé de façon standardisée par le bistro méditerranéen du Centre ÉPIC de l'ICM.

Le tableau ci-dessous donne la composition de ces deux repas, établie à partir du logiciel Food Processor.

Tableau III. Composition des deux repas à l'étude.

	HSFAM	MMM
Calories totales (kcal)	857.99	885.01
Acides gras totaux(g)	56.91	51.30
SFA (g)	14.78	7.87
MUFA (g)	22.62	25.94
PUFA (g)	11.15	8.59
PUFA oméga-3 (g)	0.00	2.29
Glucides (g)	68.74	63.81
Fibres (g)	6.56	13.00
Protéines (g)	24.16	37.82
Sodium (mg)	1806.22	1284.30
Vitamine C (mg)	4.77	87.93

4.4 Recueil des données

4.4.1 Évaluation des paramètres anthropométriques

La taille (cm) des sujets a été mesurée à l'aide d'un stadiomètre mural (précision au 0.5 mm) et le tour de taille (précision au 0.1 mm) a été mesuré au niveau du nombril à l'aide d'un ruban à mesurer non-extensible. Le poids et la composition corporelle ont été évalués à l'aide d'une balance à impédance tétrapolaire (Tanita Corporation, Japon) qui mesure le pourcentage de tissu adipeux, de tissu maigre et d'hydratation (précision au 0.1%). L'indice de masse corporelle des sujets a été calculé à l'aide de la formule suivante : poids (kg) / taille² (m).

4.4.2 Évaluation de la fonction endothéliale macrovasculaire

La mesure non-invasive de la fonction endothéliale a été effectuée par l'équipe du Dr. Jean-Claude Tardif, dans une pièce calme, silencieuse, à l'éclairage tamisée et où les sujets devaient être au repos sur le dos avant le début des procédures.

Après avoir mesuré la tension artérielle et le rythme cardiaque de repos du sujet, un sphygmomanomètre pneumatique (D.E. Hokanson Inc., USA) était d'abord placé autour du bras droit au mi-biceps. Par la suite, un segment non-tortueux de l'artère brachiale au-dessus de la fossa antécubital droite a été imagé de façon longitudinale par échographie (12 MHz, Vivid 7 Dimensions, General Electric, USA). La distance entre l'emplacement de la sonde échographique et l'extrémité du majeur a été notée afin que les examens futurs soient faits au même emplacement. Le sphygmomanomètre pneumatique était ensuite gonflé à 80 mm Hg au-dessus de la pression systolique pendant cinq minutes. Au moment de la relâche de la pression, l'artère brachiale était imagée à nouveau pendant trois minutes.

L'analyse des images a été effectuée à l'aide du logiciel *The Brachial analyzer for Research software* (Medical Imaging Applications LLC, USA) par une technicienne tenue à l'insu de la séquence d'étude. Le diamètre artériel moyen était mesuré au sommet du signal R sur trois cycles cardiaques consécutifs. Le diamètre artériel post-ischémique maximal utilisé pour le calcul du FMD était observé environ 60 secondes après le dégonflement du brassard.

La formule utilisée pour le calcul du FMD est la suivante :

$$\frac{(\text{diamètre brachial hyperhémique maximal} - \text{diamètre brachial moyen de repos}) \times 100}{\text{diamètre brachial moyen de repos}}$$

La variabilité intra et inter-observateurs de cette méthode d'analyse est de 0.056 ± 0.024 mm et de 0.073 ± 0.031 mm respectivement. La variabilité de l'évaluation du FMD fait sur deux jours différents est de $1.05 \pm 0.35\%$ (34, 249).

Cinq minutes après la fin de l'évaluation du FMD, l'évaluation de la vasodilatation indépendante de l'endothélium suivant la vaporisation de 0.4 mg de nitroglycérine sublinguale était effectuée (*nitroglycerine mediated dilatation*, NMD). Cette évaluation a seulement été faite en état de jeûne.

La formule utilisée pour le calcul de la NMD est la suivante :

$$\frac{(\text{diamètre brachial maximal post-nitroglycérine} - \text{diamètre brachial de repos}) \times 100}{\text{diamètre brachial de repos}}$$

4.4.3 Évaluation de la fonction microvasculaire

En concomitance et sur le même bras que l'évaluation de la fonction macrovasculaire par échographie, l'évaluation par NIRS de la réponse microvasculaire à l'hyperhémie post-ischémique a été effectuée. Pour ce faire, une sonde NIRS (Oxymon, Artinis Medical Systems, Nijmegen, Netherlands) avec une distance inter-optodes de 45 mm a été fixée avec du ruban adhésif sur le flexor digitorum superficialis. Cette sonde qui génère de la lumière à des longueurs d'onde de 905, 850 et 770 nm permet la différenciation entre l'oxyhémoglobine et la déoxy-hémoglobine (O_2Hb et HHb , respectivement). Par la loi de Lambert-Beer, la dispersion de photons dans le tissu a été convertie en changement de concentration de O_2Hb et HHb (250). L'addition de ces deux paramètres a aussi permis l'évaluation de l'hémoglobine totale (tHb).

L'acquisition des données a été faite en continu durant deux minutes avant l'occlusion artérielle, durant les cinq minutes d'occlusion et cinq minutes suivant le dégonflement du brassard. Les données NIRS ont ensuite été analysées à l'aide du logiciel Oxysoft (Artinis Medical Systems, Pays-Bas). Les paramètres suivants ont été considérés lors de l'analyse des données :

- 1) Consommation d'oxygène musculaire (mVO_2 en $mLO_2/min/100g$) qui a été mesurée à partir de la pente de la courbe d' O_2Hb durant la période d'occlusion artérielle
[$-d(O_2Hb)/dt$]
- 2) $\frac{1}{2}$ temps de récupération de l' O_2Hb ($\frac{1}{2}TO_2Hb$ en secondes) qui représente le temps requis pour que les valeurs d' O_2Hb hyperhémiques retournent aux valeurs initiales pré-occlusives
- 3) Temps de récupération d' O_2Hb (TO_2Hb en secondes) qui représente le temps requis pour que les valeurs d' O_2Hb atteignent les valeurs maximales hyperhémiques
- 4) Amplitude maximale d' O_2Hb ($Hmax\ O_2Hb$ en μM) qui représente l'amplitude maximale des valeurs d' O_2Hb hyperhémiques
- 5) Temps de récupération de tHb ($TtHb$ en secondes) qui représente le temps requis pour que le tHb atteigne les valeurs maximales hyperhémiques
- 6) Amplitude maximale de tHb ($Hmax\ tHb$ en μM) qui représente l'amplitude maximale des valeurs de tHb hyperhémiques

- 7) Vitesse d'augmentation maximale d'O₂Hb (μM/s) qui est calculée en divisant l'amplitude maximale d'O₂Hb par son temps de récupération
- 8) Vitesse d'augmentation maximale de tHb (μM/s) qui est calculée en divisant l'amplitude maximale de tHb par son temps de récupération
- 9) Aires sous la courbe d'O₂Hb (AUC O₂Hb) et de tHb (AUC tHb) qui sont calculées durant les cinq minutes d'hyperhémie.

Le schéma suivant présente un tracé NIRS typique :

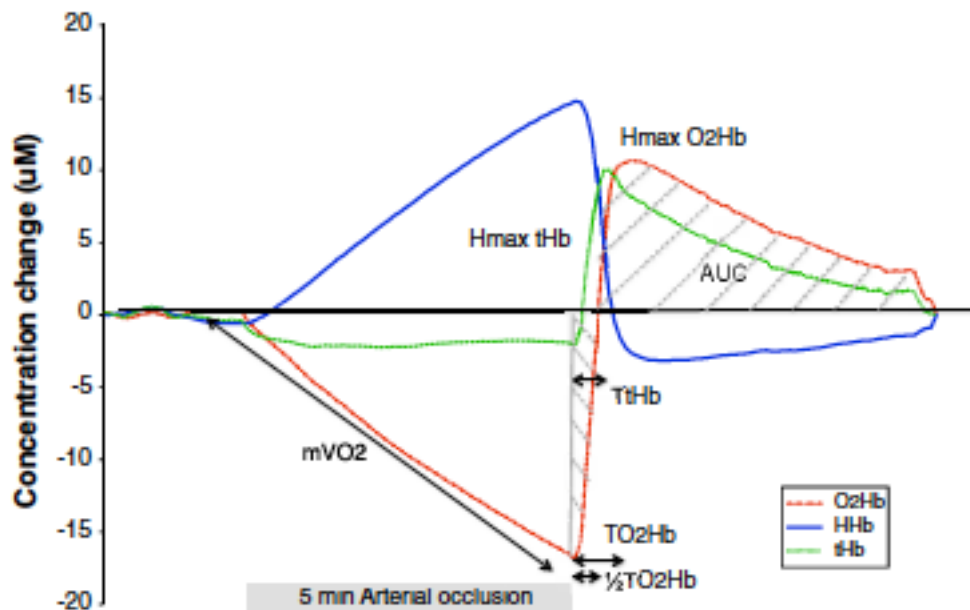


Figure 16. Représentation typique de signaux de spectroscopie proche de l'infrarouge durant les périodes d'occlusion artérielle et d'hyperhémie. Tirée de Lacroix et al. (2012) (251).

4.4.4 Évaluation de l'alimentation habituelle et de l'activité physique habituelle

Les participants ont complété un questionnaire de fréquence alimentaire établissant un score global de qualité alimentaire et d'adhésion à la diète méditerranéenne. Le questionnaire utilisé est une version adaptée pour le Québec du questionnaire de fréquence alimentaire semi-quantitatif de 14 items pour la prévention cardiovasculaire validé par Laviolle et al. (annexe 1) (252). Le score global d'adhésion à la diète méditerranéenne est dérivé de sous-scores évaluant la consommation habituelle de SFA, MUFA et PUFA

oméga-3 et de fruits et légumes. Ce questionnaire permet aussi le calcul du ratio PUFA oméga-6 :oméga-3.

Les participants ont aussi complété un questionnaire évaluant leur niveau d'activité physique passé et présent qui estime leur niveau de forme physique ($VO_2\text{max}$) (annexe 2). La validité de l'estimation de ce paramètre à l'aide de ce questionnaire est excellente ($ICC = 0.988$ et $r = 0.84$ vs $VO_2\text{max}$ mesuré) (253).

4.4.5 Dosages sanguins

Les prises de sang ont été effectuées selon des procédures standardisées par des infirmières qualifiées du Centre ÉPIC de l'Institut de cardiologie de Montréal à tous les temps d'analyse (0, 2 et 4 heures postprandiales) au cours des deux visites d'étude. De plus, du plasma a été obtenu par centrifugation à 4500 rpm à une température de 4°C durant 10 minutes de certains des tubes sanguins et a été aliquoté et congelé à -80°C pour l'analyse subséquente de d'IL-6, de MPO et de la composition des acides gras plasmatiques.

4.4.5.1 Glucose et insuline

La glycémie et l'insulinémie ont été évaluées par le laboratoire de biochimie clinique de l'Institut de cardiologie de Montréal à partir de plasma hépariné (Siemens Dimension RxL).

4.4.5.2 Profil lipidique

Le profil lipidique complet (Cholestérol total, HDL, Cholestérol/HDL et triglycéride) a été évalué par le laboratoire de biochimie clinique de l'Institut de cardiologie de Montréal à partir de plasma hépariné (Siemens Dimension RxL). Le contenu en cholestérol des LDL a été calculé selon l'équation de Friedewald (254).

4.4.5.3 Marqueurs d'inflammation

Les niveaux de CRP ont été évalués par le laboratoire de biochimie clinique de l'Institut de cardiologie de Montréal à partir de plasma hépariné (Siemens Dimension RxL) tandis que

les niveaux d'IL-6 ont été évalués par essais immunologiques ELISA (R&D Systems HS600B) à partir de plasma recueilli dans des tubes EDTA.

4.4.5.4 Marqueur de stress oxydatif

Les niveaux de MPO ont pour leur part été mesurés par essais immunologiques ELISA (Alpco Diagnostics 30-6631A) à partir de plasma recueilli dans des tubes EDTA.

4.4.5.5 Composition des acides gras plasmatiques

La composition des acides gras plasmatiques a été caractérisée par chromatographie gazeuse suivant une méthode mise au point par le groupe du Dre. Des Rosiers (255). Brièvement, du plasma recueilli dans des tubes EDTA a été dilué dans une solution d'hexane/chloroforme/méthanol (95:3:2) et asséché à l'aide de l'azote. Les échantillons ont ensuite été transméthylés en resuspendus dans de l'hexane/méthanol (1:4) et chauffés à 100°C durant une heure. La phase supérieure contenant les acides gras méthylés a ensuite été soumise à une chromatographie gazeuse à 190°C durant 25 minutes et augmentée de 2°C/minute jusqu'à 245°C. Des acides gras marqués de longueur et de degré de saturation différents ont été ajoutés aux échantillons pour standardiser la quantification des acides gras non-marqués.

PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Les résultats de ce programme de recherche seront exposés sous forme de manuscrits

Contributions des auteurs

Article de revue sur le rôle du stress oxydatif postprandial

Sébastien Lacroix est l'auteur principal de cet article. Il a effectué le recensement de la littérature et la rédaction du manuscrit.

Jean-Claude Tardif, Christine Des Rosiers et Anil Nigam ont révisé et approuvé le manuscrit.

Étude 1 – Fonction endothéliale postprandiale et profil lipidique

Sébastien Lacroix est l'auteur principal de ce manuscrit. Il a conçu l'étude clinique, recruté les participants, collecté et analysé les données.

Christine Des Rosiers, Mathieu Gayda et Anil Nigam ont contribué à la conception de l'étude.

Christine Des Rosiers, Éric Thorin et Anil Nigam ont aidé à l'écriture et à la révision du manuscrit.

Anna Nozza a participé à l'analyse statistique des données.

Jean-Claude Tardif a supervisé le déroulement des échographies brachiales.

Étude 2 – Reproductibilité de la spectroscopie proche de l'infrarouge

Sébastien Lacroix est l'auteur principal de ce manuscrit. Il a recruté les participants, collecté et analysé les données.

Mathieu Gayda a participé à la collecte des données de microcirculations.

Mathieu Gayda, Vincent Grémeaux, Martin Juneau et Anil Nigam ont aidé à l'écriture et à la révision du manuscrit.

Jean-Claude Tardif a supervisé le déroulement des évaluations microvasculaires brachiales.

Étude 3 – Fonction microvasculaire postprandiale

Sébastien Lacroix est l'auteur principal de ce manuscrit. Il a conçu l'étude clinique, recruté les participants, collecté et analysé les données.

Christine Des Rosiers, Mathieu Gayda et Anil Nigam ont contribué à la conception de l'étude.

Mathieu Gayda a participé à la collecte des données de spectroscopie proche de l'infrarouge.

Mathieu Gayda, Christine Des Rosiers, Éric Thorin et Anil Nigam ont aidé à l'écriture et à la révision du manuscrit.

Jean-Claude Tardif a supervisé le déroulement des évaluations microvasculaires brachiales.

5. Étude 1 – Fonction endothéliale postprandiale et profil lipidique

Un repas de type méditerranéen n'altère pas la vasodilatation induite par le débit sanguin postprandiale en comparaison à un repas riche en acides gras saturés chez des hommes sains avec une triglycéridémie élevée, mais normale

A single Mediterranean-type meal does not impair postprandial flow-mediated dilatation in comparison to a high-saturated fat meal in healthy men with high-normal fasting triglyceridemia

Sébastien Lacroix MSc *, †, ‡, §, Christine Des Rosiers PhD †, ‡, Mathieu Gayda PhD *, †, §, Anna Nozza MSc ||, Éric Thorin PhD †, ¶, Jean-Claude Tardif MD †, § and Anil Nigam MD MSc *, †, ‡, §

* Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montreal Heart Institute, Montreal, Canada † Montreal Heart Institute Research center, Montreal, Canada ‡ Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada § Department of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada || Montreal Heart Institute Coordinating Center, Montreal, Canada ¶ Department of Surgery, Université de Montréal, Montreal, Canada

Soumis à *British Journal of Nutrition*

A single Mediterranean-type meal does not impair postprandial flow-mediated dilatation in comparison to a high-saturated fat meal in healthy men with high-normal fasting triglyceridemia

Sébastien Lacroix ¹⁻³, Christine Des Rosiers ¹⁻³, Mathieu Gayda ^{1,2,4}, Anna Nozza ⁵, Éric Thorin ^{2,6}, Jean-Claude Tardif ^{2,4} and Anil Nigam ¹⁻⁴

¹ Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montreal Heart Institute, 5055 St-Zotique street east, Montreal, Quebec, Canada, H1T 1N6

² Montreal Heart Institute Research center, 5000 Belanger Street, Montreal, Quebec, Canada, H1T 1C8

³ Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, 2405, Côte-Sainte-Catherine road, local 1204, Montréal, Canada, H3T 1A8

⁴ Department of Medicine, Université de Montréal, 2900 Boulevard Edouard-Montpetit, Montréal, Canada, H3T 1J4

⁵ Montreal Heart Institute Coordinating Center, 5000 Belanger Street, Montreal, Quebec, Canada, H1T 1C8.

⁶ Department of Surgery, Université de Montréal, 2900 Boulevard Edouard-Montpetit, Montréal, Canada, H3T 1J4

Running title: Mediterranean meal and endothelial function

Keywords: Postprandial endothelial function, Flow-mediated dilatation, Mediterranean meal, High-saturated fat meal

Abstract

Background: Hypertriglyceridemia is known to exacerbate high-SFA meal (HSFAM)-induced endothelial dysfunction but the influence of non-pathological but elevated fasting triglyceridemia is unknown. Moreover, the impact of a single mixed Mediterranean-type meal (MMM) on postprandial vascular function has not yet been evaluated and could benefit such individuals. The aim of this study was to evaluate vascular and metabolic responses to a MMM in comparison to a HSFAM and to assess the influence of fasting triglyceridemia within the normal range. **Methods:** Twenty-eight (28) healthy males were divided according to fasting triglyceridemia (above or below median) and randomly fed one of two isocaloric test meals on separate days. Endothelial function was evaluated by brachial ultrasound (Flow-mediated dilatation; FMD) in the fasted and postprandial states. Blood glucose, insulin, lipids and plasma fatty acid profile were measured. **Results:** In individuals with fasting triglyceridemia above the median, the HSFAM was associated with impaired postprandial FMD ($\Delta\text{FMD} = -3.5 \pm 3.2\%$, $p < 0.05$) and plasma enrichment in stearic acid, while the MMM did not impair FMD ($\Delta\text{FMD} = -1.0 \pm 4.4\%$, ns) and led to plasma enrichment in omega-3 PUFA. In individuals with the lowest fasting triglyceridemia, FMD was unaffected by either meal. **Conclusions** Fasting triglyceridemia in all ranges can modulate endothelial sensitivity to meals of varying composition and thus influences postprandial endothelial function. Elevated but normal fasting triglyceridemia increases the risk of transient endothelial dysfunction following a single HSFAM but not after a MMM.

INTRODUCTION

Elevated triglyceridemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease through its association with obesity, insulin resistance and endothelial dysfunction ^(1, 2). Meals reflective of a Western dietary pattern such as a high-SFA meal (HSFAM)¹⁰ induce transient postprandial hypertriglyceridemia, oxidative stress and inflammation of the arterial wall, and impair endothelial function ⁽³⁻⁵⁾. Subjects with elevated fasting triglyceridemia were shown to develop acute endothelial dysfunction in response to a single HSFAM, which suggests that the resistance of the endothelium to nutritional challenges is affected by chronic contact with triglycerides ^(6, 7).

The Mediterranean-type diet, which contrasts with the Western diet by its healthy fat and antioxidant content, is known to preserve endothelial function ⁽⁸⁾, antioxidant capacities ⁽⁹⁾ and simultaneously reduce cardiovascular events and mortality ⁽¹⁰⁻¹³⁾. Interestingly, the addition of some Mediterranean components such as olive oil, fish or fish oil, nuts and antioxidant vitamins to a single HSFAM could attenuate its negative impact on vascular function but controversies still remain ^(4, 14, 15). Furthermore, the acute endothelial response to a complete Mediterranean-type meal reflecting the Mediterranean diet has never been tested.

We thus investigated the impact of a mixed Mediterranean meal (MMM) on endothelial function in healthy males and of the potential impact of baseline fasting triglyceridemia status. We hypothesized that a single MMM would not adversely impact postprandial vascular function in comparison to a HSFAM in a group of individuals with high-normal fasting triglyceridemia.

METHODS

Study population

Twenty-eight male subjects, aged 18 to 50 years and free of cardiovascular disease and risk factors were recruited on a self-referral basis from the cardiovascular prevention centre of the Montreal Heart Institute. Potential participants were screened on the basis of their medical and familial history, medication use and blood work. Exclusion criteria were known vascular disease (coronary, cerebral or peripheral), heart failure, left ventricular ejection fraction < 40%, renal insufficiency (creatinine clearance < 90 ml/min), hypertension (blood pressure >140/90 mmHg), dyslipidemia (LDL-C > 3.5 mmol/L), diabetes mellitus, abdominal obesity (waist circumference > 102 cm), acute infection, any medication use, nitroglycerin intolerance, history of alcohol abuse, smoking (active or within the past year) and supplementation with omega-3 PUFA (past 3 months) or vitamin C (past 2 weeks). This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Montreal Heart Institute ethics committee. Written informed consent was obtained from all subjects.

Intervention

Study participants were randomly assigned to two different meal sequences using a crossover design (MMM – HSFAM or HSFAM – MMM). Test meals were separated by a minimum of seven and a maximum of 30 days. The MMM consisted of fresh salmon with onion and almond pesto served with green beans, cherry tomatoes and potatoes all baked in extra-virgin olive oil (51% of total calories from fat with 7.87g SFA and 2.29g omega-3 PUFA). The HSFAM consisted of a commercially-prepared sausage, egg and cheese breakfast sandwich with three hash browns (58% of total energy from fat and 14.78g SFA) which was obtained from a multinational fast-food restaurant on the day of each test meal. The nutritional composition of test meals is listed in table 1. Nutritional content was matched for most macro- and micro-nutrients with the exception of SFA and PUFA omega-3, fibres, and vitamin C. Sodium was added to the MMM meal to approximate sodium content in HSFAM, since sodium may impact 2-hour postprandial endothelial function⁽¹⁶⁾. Meals were consumed in the early morning (9:00 – 9:30 am) after an overnight fast. Subjects were asked

to refrain from strenuous exercise and alcohol consumption for 24 hours prior to both study visits. Personnel performing testing were blinded to intervention sequence.

Anthropometric measures and blood samples

Subjects underwent a medical history, physical examination with measurement of height, weight and body composition with tetrapolar bio-electrical impedance (Tanita BC418, Tanita Corporation, Japan). Blood was drawn in the fasting state (T0) and two (T2) and four (T4) hours after meal ingestion for quantification of blood glucose, insulin, lipid profile and hs-CRP by a Siemens Dimension RxL (Siemens AG, Germany). High sensitivity IL-6 (hsIL-6) and myeloperoxidase (MPO) were evaluated by immunoassays (R&D Systems HS600B and Alpco Diagnostics 30-6631A, respectively).

Background dietary habits were evaluated using a validated 14-item FFQ for cardiovascular prevention ⁽¹⁷⁾. This questionnaire yields a global score reflecting global dietary pattern and sub-scores for SFA, MUFA, omega-3 PUFA, omega-6: omega-3 PUFA ratio and fruit and vegetable intakes. Physical activity habits were assessed using a validated 10-item questionnaire estimating VO₂max with very high reliability ⁽¹⁸⁾.

Endothelium-dependant dilatation

Endothelial function was evaluated in the fasted (T0) and postprandial (T2 and T4) states using ultrasonography following 5-minute brachial artery occlusion using a pressure cuff connected to an automated cuff inflator (D. E. Hokanson Inc., model E20, USA) positioned above the right elbow and inflated at 80 mmHg over the systolic blood pressure and according to recent guidelines ⁽¹⁹⁾. Images were analyzed offline using the *Brachial analyzer for Research* software (Medical Imaging Applications LLC, USA) by a single technician blinded to the meal sequence in order to minimize variability and potential bias. Flow-mediated dilatation (FMD) was defined as the maximal percent of arterial dilatation from baseline during post-occlusive reactive hyperemia. Using this method, the intra- and inter-observer variability for brachial artery diameter determinations are 0.056 ± 0.024 and 0.073 ± 0.031 mm, respectively ⁽²⁰⁾. The intra-subject variability of FMD measurements between both visits yielded a coefficient of variation of 9 %, which is lower than previously

published values ⁽²¹⁾. Resting and hyperemic blood flow was also measured at rest and following cuff deflation.

Endothelium-independent dilatation

Fasting nitroglycerin-mediated dilatation (NMD), a marker of endothelium-independent dilatation, was assessed five minutes after completion of the evaluation of FMD. Nitroglycerin-mediated dilatation was defined as the maximal percent of arterial dilatation during a 3-minute period following administration of a sublingual vaporisation of 0.4 mg of nitroglycerin and was used as a control to insure normal vascular smooth muscle vasomotor function.

Total fatty acid quantification

Total plasma fatty acids (FA) were quantified by gas chromatography coupled to mass spectroscopy following a previously described methodology ⁽²²⁾.

Statistical analysis

A study population size of 28 subjects provided 90% power to detect a 2% absolute variation in FMD, which was previously shown to be clinically significant ^(20, 23). Normality of distribution was evaluated and data not normally distributed were log-transformed before analysis. For the primary endpoint (i.e. FMD), a two-way ANOVA including a term for the carry-over effect (meal sequence), intervention and period was performed. Since there was no evidence of carry-over effect, the difference of the least square means for the meals has been reported. Blood parameters were analyzed with a similar statistical model to evaluate the effects of sequence, meal, time and the interaction between meal and time. If the interaction term was significant, then within meal x time interaction were evaluated. Pearson correlation was used to assess the relationship between secondary variables (baseline arterial diameter and blood parameters) and FMD. Non-parametric tests were used to analyze FA data. Postprandial area under the triglyceride curve adjusted for fasting values (iAUC) was calculated according to Wolever et al. ⁽²⁴⁾. All data are presented as means \pm SD. All tests were two-sided and conducted at the 0.05 significance level. Data were analyzed with SAS analytical software version 9.2 and Statview version 5.0 (SAS Institute Inc., USA).

RESULTS

Demographic, anthropometric and metabolic data are presented in Table 2. Mean age was 33.8 ± 8.3 years and mean BMI was 25.2 ± 3.1 kg/m². Although within the normal range, we evaluated the potential influence of baseline fasting triglyceridemia on the endothelial response to test meals by dividing subjects into two groups: above (high-normal or hnTG) and below (low-normal or lnTG) the group median (0.87 mmol/L). Percent body fat, percent trunk fat mass were significantly higher in the hnTG compared to the lnTG group.

Global dietary score and scores for intakes of SFA, MUFA and omega-3 PUFA and the omega-6: omega-3 PUFA ratio did not differ between hnTG and lnTG sub-groups (table 3). Intake of fruits and vegetables was however higher in the lnTG group. Mean estimated VO₂max (~ 50 ml/kg/min) suggested good aerobic fitness and was similar between sub-groups ($p > 0.05$)⁽²⁵⁾.

Endothelial function

Fasting FMD ($10.8 \pm 3.2\%$ and $10.5 \pm 2.7\%$ for hnTG and lnTG respectively) and NMD ($12.7 \pm 2.8\%$ and $10.9 \pm 2.6\%$ respectively) were similar ($p > 0.05$) prior to both test meals and consistent with normal endothelial and vascular function. Postprandial FMD was significantly impaired by the HSFAM and unaffected by the MMM (Δ FMD = $-3.5 \pm 3.2\%$ vs. $-1.0 \pm 4.4\%$ for HSFAM and MMM respectively, $p < 0.05$ ANOVA meal x time interaction) in the hnTG group only, while no meal or time effects were observed in lnTG group (Figure 1). Of note, resting brachial artery diameters were increased in the postprandial states irrespective of test meal and baseline triglyceride level ($p < 0.05$ ANOVA time effect only).

Postprandial metabolic response

Insulin was significantly elevated in the postprandial state, an effect that was similar following both meals in hnTG group (p -value < 0.05 for ANOVA time effect only) while the insulin response was greater following the HSFAM in the lnTG group (p -value < 0.05 ANOVA meal x time interaction) (figure 2A). Postprandial triglycerides increased to a similar degree following both meals in the hnTG group (p -value < 0.05 for ANOVA time

effect only), while the increase was influenced by meal nature in the lnTG group (p-value < 0.05 ANOVA meal x time interaction) (figures 2B). Incremental AUC_{TG} was greater in hnTG subjects (p-value < 0.05 vs. lnTG) whereas iAUC_{TG} was influenced by meal nature only in lnTG subjects (p-value < 0.01 HSFAM vs. MMM) (figure 2C). Postprandial triglyceridemia correlated significantly with FMD in the hnTG group only. In fact, postprandial triglyceridemia following the MMM was positively associated with FMD ($r = 0.56$, $p < 0.05$) whereas it was negatively associated with FMD following HSFAM ingestion ($r = -0.61$, $p < 0.05$).

Neither test meal had an immediate impact on hs-CRP, hsIL-6 or MPO (supplementary table 1). Importantly, hsIL-6 and MPO were quantified in only six subjects (3 from each sub-group) and served as an exploratory evaluation.

Plasma fatty acid composition

Total fasting plasma FA concentration was higher in the hnTG group (16.3 ± 4.00 vs 11.5 ± 2.2 nmol/ μ l for lnTG, p-value < 0.05) but composition was similar between sub-groups. Postprandial total plasma FA concentrations varied similarly following both meals in the hnTG subjects (Δ FA_{Total} = 4.9 ± 3.6 vs. 4.4 ± 4.0 nmol/ μ l for HSFAM and MMM respectively, $p > 0.05$), whereas it was more increased by the HSFAM in the lnTG group (Δ FA_{Total} = 3.0 ± 3.9 vs. 0.9 ± 1.7 nmol/ μ l for HSFAM and MMM respectively, p-value < 0.05). Group difference in postprandial total plasma FA elevation was only observed following the MMM. Regarding plasma FA composition, we observed differences in postprandial plasma enrichment between meals for stearic acid (18:0), EPA (20:5n3), docosapentaenoic acid (22:5n3; DPA) and DHA (22:6n3) in the hnTG sub-group (figure 3A) whereas only oleic acid (18:1n9) and linoleic acid (18:2n6) were differentially affected by meal nature in the lnTG sub-group (figure 3B).

DISCUSSION

This is the first study to investigate the influence of a single meal reflective of the Mediterranean diet on postprandial endothelial function while concomitantly evaluating the circulating FA profile. We showed that a HSFAM impairs postprandial endothelial function while a MMM has no deleterious effect on endothelial function in healthy subjects with high-normal fasting triglyceridemia. Secondly, neither test meal influences endothelial function in individuals with low-normal fasting triglyceridemia. Finally, fasting triglyceride level, even within the normal range, appears to influence postprandial plasma FA elevation and composition and may contribute to the differences in endothelial responses to meals we observed.

The observation that only subjects with hnTG exhibited a clinically and statistically significant reduction in postprandial endothelial function following a single HSFAM extends to a low-cardiovascular risk cohort what was previously reported in high-cardiovascular risk patients^(6, 7). In fact, previous studies demonstrated that a HSFAM resulted in impaired postprandial vasodilatation in patients with hypertriglyceridemia (mean 2.8-3.8 mmol/L) and not in their normolipidemic counterparts^(6, 7). Our findings now suggest that even slightly elevated but normal fasting triglyceride level may be indicative of a lowered resistance of the endothelium to a SFA challenge. Furthermore, the neutral effect of the MMM on FMD in both sub-groups is in line with findings showing that the addition of long-chain omega-3 PUFA to high-fat meals improved postprandial endothelial function in hypertriglyceridemic diabetic patients (mean triglyceride level 2.7mmol/L)⁽²⁶⁾.

The differential FMD response to test meals in the hnTG group cannot be explained by differences in postprandial insulin or triglyceride concentrations since these parameters were increased to similar degrees following both meals (no ANOVA meal effect in the hnTG group). However, a difference in postprandial triglyceride clearance may explain some of our findings. In fact, hnTG subjects exhibited a greater iAUC_{TG} suggestive of a longer period of time spent under a hypertriglyceridemic load, which could have been sufficient to exert a detrimental effect on endothelial function following the HSFAM. The significant association

between postprandial triglyceridemia and FMD found only in the hnTG sub-group reinforces this hypothesis. Increased sensitivity of the endothelium to meal composition was previously reported in patients with overt hypertriglyceridemia and diabetes ⁽²⁶⁾. Postprandial triglyceride handling is known to be influenced by pathological metabolic deregulations such as obesity, insulin resistance and/or dyslipidemia that result in impaired exogenous FA clearance and a prolonged postprandial period ^(27, 28). Interestingly, individuals in the hnTG group had higher total and trunk fat mass and a worse baseline metabolic profile relative to the lnTG group, although all parameters were within the “normal” range (see table 2). High-normal baseline triglyceride levels could thus indicate a state of early metabolic deregulation sufficient to impair postprandial triglyceride clearance and increase endothelial sensitivity to nutritional challenges. Moreover, fasting triglyceridemia levels comparable to that of our hnTG group (mean 1.9 ± 0.3 mmol/L) were found to be reflective of increased fasting apoB-containing lipoprotein concentration and to play a causative role in impairing lipoprotein lipase (LPL) activity and delaying postprandial triglyceride clearance ⁽²⁹⁾. In the same study, subjects that had low apoB levels and normal LPL activity had fasting triglyceride levels (mean 1.0 ± 0.1 mmol/L) comparable to those of our lnTG subjects. To a certain extent, high-normal fasting triglyceridemia and early metabolic deregulations could thus be reflective and/or responsible for LPL dysfunction as seen in obese subjects with overt hypertriglyceridemia.

The fact that the direction of the association between postprandial triglycerides and FMD varied according to meal nature in the hnTG group, suggests that differences in composition of postprandial circulating triglycerides between meals existed. Characterization of plasma FA composition confirmed this assumption, particularly in the hnTG group, in whom the FA profile continued to reflect meal composition four hours following meal ingestion. This could be the result of differential FA absorption but most probably reflects slower handling and prolonged plasma residence times of meal FA in the hnTG group. Prolonged plasma enrichment in SFA, which are known for their pro-inflammatory/oxidant and deleterious vasoactive properties, could explain the observations made upon HSFAM ingestion in the hnTG sub-group ^(30, 31). Conversely, increased plasma enrichment in omega-3 PUFA following the MMM, could also explain the lack of effect of this meal type on

endothelial function given that omega-3 PUFA are known for their anti-inflammatory and favourable vasoactive properties ⁽³¹⁻³⁴⁾. Furthermore, the greater fruit and vegetable (and thus antioxidant) intake seen in the InTG group, could have contributed to protecting the endothelium from the metabolic stress associated with the HSFAM.

Altogether, these data suggest that high-normal fasting triglyceride levels could be a marker of an early metabolic deregulation resulting in impaired exogenous triglyceride clearance, a prolonged postprandial period, thus increasing the influence of circulating fatty acid composition on oxidative, inflammatory and ultimately endothelial processes. Our data suggest that individuals exhibiting a hnTG phenotype would benefit from consuming meals - and diets - rich in components of the Mediterranean-type.

Limitations

This study was limited to healthy men to minimize potential confounders and results may not be generalizable. We did not enrol women due to the potential effects of the female hormonal cycle on endothelial function ⁽³⁵⁻³⁷⁾. Furthermore, differences in pre-fast meal composition between study visits and between participants could have influenced responses to interventions. However, the fact that all baseline parameters were identical within sub-groups for both study visits suggests that this had minimal impact. The choice of FFQ aimed specifically at evaluating the quality of FA intake could have misevaluated the impact of other macronutrient on endothelial responses to test meals. Finally, the selection of inflammatory and oxidative stress biomarkers and/or their analysis in a statistically insufficient subset of participants might have led to misinterpretation of the involvement of these processes in the observed postprandial endothelial events.

CONCLUSION

The present study reveals that elevated fasting triglyceridemia in the “normal” range in otherwise low-cardiovascular risk individuals is a factor that determines endothelial resistance to nutritional components detrimental to its function, possibly by influencing postprandial fatty acid handling. In fact, a single HSFAM induced clinically significant

endothelial dysfunction only in healthy subjects with high-normal fasting triglyceridemia. Moreover, a typical Mediterranean meal rich in antioxidants and associated with elevated plasma levels of unsaturated FA such as omega-3 PUFA, had no deleterious impact on endothelial function irrespective of fasting triglyceridemia. This suggests that healthy subjects with marginal metabolic profiles would benefit from Mediterranean-type meals with a lower atherogenic potential than high-SFA, Western-type meals. Our results contribute to increasing the awareness of the importance of each and every meal for maintaining vascular health and will hopefully assist the scientific community in convincing the general “healthy” population of the importance of dietary composition in the prevention of CHD.

Acknowledgements The authors wish to acknowledge the assistance of study coordinator Julie Lalongé, echography technicians Danielle Gélina and Marie Gagnon, the nursing staff of the Cardiovascular prevention and rehabilitation centre of the Montreal Heart Institute, mass spectrometry analyst Caroline Daneault, clinical biochemistry director Dr. Joel Lavoie and senior biostatistician of the Montreal Heart Institute Coordinating Center Dr. Jean Lambert.

Funding: This research received no specific grant from any funding agency, commercial or not-for-profit sector.

Conflict of interest: None

Authorship: S.L., C.D.R., A.Nigam. designed research; S.L., M.G. J.C.T. conducted research; S.L., A.Noza analyzed data; S.L., C.D.R., E.T., A.Nigam.wrote the paper; S.L., A.Nigam. had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

1. Castelli WP. (1986) The triglyceride issue: a view from Framingham. *Am Heart J* **112**, 432-437.
2. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, *et al.* (2009) Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA* **302**, 1993-2000.
3. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. (1997) Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol* **79**, 350-354.
4. Lacroix S, DesRosiers C, Tardif JC, *et al.* (2012) The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction. *Nutr Res Rev* **25**, 288-301.
5. Bae JH, Bassenge E, Kim KB, *et al.* (2001) Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis* **155**, 517-523.
6. Giannattasio C, Zoppo A, Gentile G, *et al.* (2005) Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**, 406-410.
7. Norata GD, Grigore L, Raselli S, *et al.* (2006) Triglyceride-rich lipoproteins from hypertriglyceridemic subjects induce a pro-inflammatory response in the endothelium: Molecular mechanisms and gene expression studies. *J Mol Cell Cardiol* **40**, 484-494.
8. Rallidis LS, Lekakis J, Kolomvotsou A, *et al.* (2009) Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr* **90**, 263-268.
9. Zamora-Ros R, Serafini M, Estruch R, *et al.* (2013) Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: Evidence for a mechanism of antioxidant tuning. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*.
10. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, *et al.* (1986) The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* **124**, 903-915.
11. Sofi F, Abbate R, Gensini GF, *et al.* (2010) Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* **92**, 1189-1196.
12. Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D. (2009) Anatomy of health effects of Mediterranean diet: Greek EPIC prospective cohort study. *BMJ* **338**, b2337.

13. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, *et al.* (2013) Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med*.
14. Plotnick GD, Corretti MC, Vogel RA. (1997) Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA* **278**, 1682-1686.
15. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. (2000) The postprandial effect of components of the Mediterranean diet on endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **36**, 1455-1460.
16. Dickinson KM, Clifton PM, Keogh JB. (2011) Endothelial function is impaired after a high-salt meal in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* **93**, 500-505.
17. Laviolle B, Froger-Bompas C, Guillo P, *et al.* (2005) Relative validity and reproducibility of a 14-item semi-quantitative food frequency questionnaire for cardiovascular prevention. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **12**, 587-595.
18. Trivel D, Calmels P, Leger L, *et al.* (2004) Validity and reliability of the Huet questionnaire to assess maximal oxygen uptake. *Can J Appl Physiol* **29**, 623-638.
19. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, *et al.* (2011) Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**, H2-12.
20. Nigam A, Mitchell GF, Lambert J, *et al.* (2003) Relation between conduit vessel stiffness (assessed by tonometry) and endothelial function (assessed by flow-mediated dilatation) in patients with and without coronary heart disease. *Am J Cardiol* **92**, 395-399.
21. Herrington DM, Fan L, Drum M, *et al.* (2001) Brachial flow-mediated vasodilator responses in population-based research: methods, reproducibility and effects of age, gender and baseline diameter. *J Cardiovasc Risk* **8**, 319-328.
22. Gelinas R, Thompson-Legault J, Bouchard B, *et al.* (2011) Prolonged QT interval and lipid alterations beyond beta-oxidation in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase null mouse hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **301**, H813-823.
23. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, *et al.* (2002) Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* **39**, 257-265.

24. Wolever TM. (2004) Effect of blood sampling schedule and method of calculating the area under the curve on validity and precision of glycaemic index values. *Br J Nutr* **91**, 295-301.
25. Shvartz E, Reibold RC. (1990) Aerobic fitness norms for males and females aged 6 to 75 years: a review. *Aviat Space Environ Med* **61**, 3-11.
26. West SG, Hecker KD, Mustad VA, *et al.* (2005) Acute effects of monounsaturated fatty acids with and without omega-3 fatty acids on vascular reactivity in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia* **48**, 113-122.
27. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. (2007) Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr* **98**, 458-473.
28. Mekki N, Christofilis MA, Charbonnier M, *et al.* (1999) Influence of obesity and body fat distribution on postprandial lipemia and triglyceride-rich lipoproteins in adult women. *J Clin Endocrinol Metab* **84**, 184-191.
29. Bissonnette S, Salem H, Wassef H, *et al.* (2013) Low density lipoprotein delays clearance of triglyceride-rich lipoprotein by human subcutaneous adipose tissue. *J Lipid Res* **54**, 1466-1476.
30. Erridge C, Attina T, Spickett CM, *et al.* (2007) A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr* **86**, 1286-1292.
31. De Caterina R, Liao JK, Libby P. (2000) Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr* **71**, 213S-223S.
32. Williams CM, Maitin V, Jackson KG. (2004) Triacylglycerol-rich lipoprotein-gene interactions in endothelial cells. *Biochem Soc Trans* **32**, 994-998.
33. Norata GD, Grigore L, Raselli S, *et al.* (2007) Post-prandial endothelial dysfunction in hypertriglyceridemic subjects: molecular mechanisms and gene expression studies. *Atherosclerosis* **193**, 321-327.
34. Armah CK, Jackson KG, Doman I, *et al.* (2008) Fish oil fatty acids improve postprandial vascular reactivity in healthy men. *Clin Sci (Lond)* **114**, 679-686.
35. Harris RA, Tedjasaputra V, Zhao J, *et al.* (2012) Premenopausal women exhibit an inherent protection of endothelial function following a high-fat meal. *Reprod Sci* **19**, 221-228.

36. Higashi Y, Kihara Y, Noma K. (2012) Endothelial dysfunction and hypertension in aging. *Hypertens Res*.
37. Witte DRWJ, de Konin EJ, van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML. (2005) Is the association between flow-mediated vasodilation and cardiovascular risk is limited to low-risk population? *J Am Coll Cardiol* **45**, 1987-1993.

FIGURES

Figure 1. Macrovascular parameters according to fasting triglyceride status – Flow mediated dilatation (FMD) in response to a high-saturated fatty acid meal (HSFAM) and a mixed Mediterranean-type meal (MMM); error bars indicate SD. * p-value < 0.05 vs. Baseline

Figure 2. Metabolic parameters according to fasting triglyceride status – (A) Insulin, (B) Triglycerides and (C) iAUC_{TG} in response to a high-saturated fatty acid meal (HSFAM) and a mixed Mediterranean-type meal (MMM); error bars indicate SD. * p-value ≤ 0.01 and † p-value ≤ 0.1 vs. MMM, ‡ p-value ≤ 0.1 vs. lnTG

Figure 3. Plasma fatty acid profiles according to fasting triglyceride status – Plasma composition in most important fatty acids (FA) before and 4-hour after a high-saturated fatty acid meal (HSFAM) or a mixed Mediterranean-type meal (MMM) ingestion; error bars indicate SD. * p-value ≤ 0.05 and † p-value ≤ 0.01 vs. baseline; ‡ p-value ≤ 0.05 and § p-value < 0.01 vs. MMM

TABLES

Table 1. Nutritional composition of both test meals

	HSFAMMMM	
Total calories (kcal)	858	885
Total lipids (g)	56.9	51.3
Total calories from fat (%)	58	51
SFA (g)	14.8	7.9
MUFA (g)	22.6	25.9
Total PUFA (g)	11.2	8.6
Omega-3 PUFA (g)	-	2.3
DHA:EPA	-	2:1
Carbohydrates (g)	68.7	63.8
Fibers (g)	6.6	13.0
Proteins (g)	24.2	37.8
Sodium (mg)	1806	1284
Vitamin C (mg)	4.8	87.9

HSFAM, High-SFA meal, MMM, Mixed Mediterranean meal

Table 2. Baseline demographics and anthropometrics of study participants

	All subjects (n=28)	SD	hnTG (n=14)	SD	lnTG (n=14)	SD
Age (years)	33.8	8.3	35.9	8.2	31.7	8.1
Height (cm)	176.8	5.7	175.4	6.0	178.3	5.1
Weight (kg)	78.7	9.9	80.7	11.5	76.7	7.7
BMI (kg/m ²)	25.2	3.1	26.3	3.5	24.2	2.3
Body fat (%)	18.3	6.3	20.8	5.2 *	16.0	6.5
Trunk fat mass (%)	20.5	7.3	23.0	6.0 *	17.7	7.3
SBP (mmHg)	120	7.1	120	6.8	120	7.5
DBP (mmHg)	73	7.8	74	8.5	73	7.2
Glucose (mmol/L)	4.75	0.40	4.80	0.32	4.69	0.39
Insulin (pmol/L)	45.6	28.3	57.7	29.5 *	34.3	22.2
HOMA-IR	1.35	0.92	1.77	0.90 *	1.06	0.76
Triglycerides (mmol/L)	1.03	0.60	1.39	0.65 *	0.67	0.22
Cholesterol (mmol/L)	4.53	1.03	4.99	0.93 *	4.09	0.95
HDL-C (mmol/L)	1.31	0.38	1.14	0.33 *	1.47	0.35
Calculated LDL-C (mmol/L)	2.83	0.88	3.23	0.78 *	2.44	0.81
Non-HDL C (mmol/L)	3.23	1.10	3.85	0.78 *	2.62	0.90
C / HDL	1.35	0.92	4.71	1.33 *	2.96	0.72

hnTG, high-normal fasting triglyceridemia, lnTG, low-normal fasting triglyceridemia, SBP
Systolic blood pressure, DBP, Diastolic blood pressure, HOMA-IR, Homeostasis model of
assessment – insulin resistance

p-value < 0.05 vs. lnTG

Table 3. Background dietary habits and fitness levels

	All subjects (n=28)	SD	hnTG (n=14)	SD	lnTG (n=14)	SD
Global dietary score	8.7	4.3	8.1	4.8	9.3	4.0
SFA score	3.0	1.5	3.0	1.3	3.1	1.8
MUFA score	2.4	1.3	2.2	1.2	2.6	1.5
Omega-3 PUFA score	4.7	2.7	5.0	2.5	4.4	2.9
Fruit and vegetables score	3.0	1.5	3.9	2.0 *	5.3	1.1
Omega-6 : omega-3 PUFA	4.7	5.9	3.3	1.1	6.0	8.1
Estimated VO ₂ max (ml / (kg • min)	49.6	8.2	49.7	8.0	49.5	8.7

hnTG, high-normal fasting triglyceridemia, lnTG, low-normal fasting triglyceridemia

* p-value < 0.05 vs. lnTG

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Supplementary table 1. Fasting and postprandial inflammatory and oxidative stress markers

	hnTG						lnTG					
	Baseline	SD	HSFAM T4	SD	MMM T4	SD	Baseline	SD	HSFAM T4	SD	MMM T4	SD
hs-CRP (mg/L)	0.87	0.82	0.91	0.95	0.80	0.63	0.70	0.55	0.55	0.34	0.68	0.81
hsIL-6 (ng/L)	0.72	0.14	0.61	0.04	1.23	0.65	0.69	0.47	1.31	1.50	0.89	0.39
MPO (ng/ml)	48.8	4.9	44.7	2.6	48.4	13.8	36.0	10.0	33.5	11.0	33.7	8.3

hnTG, high-normal fasting triglyceridemia, lnTG, low-normal fasting triglyceridemia, HSFAM, High-SFA meal, MMM, Mixed Mediterranean meal, MPO, Myeloperoxidase

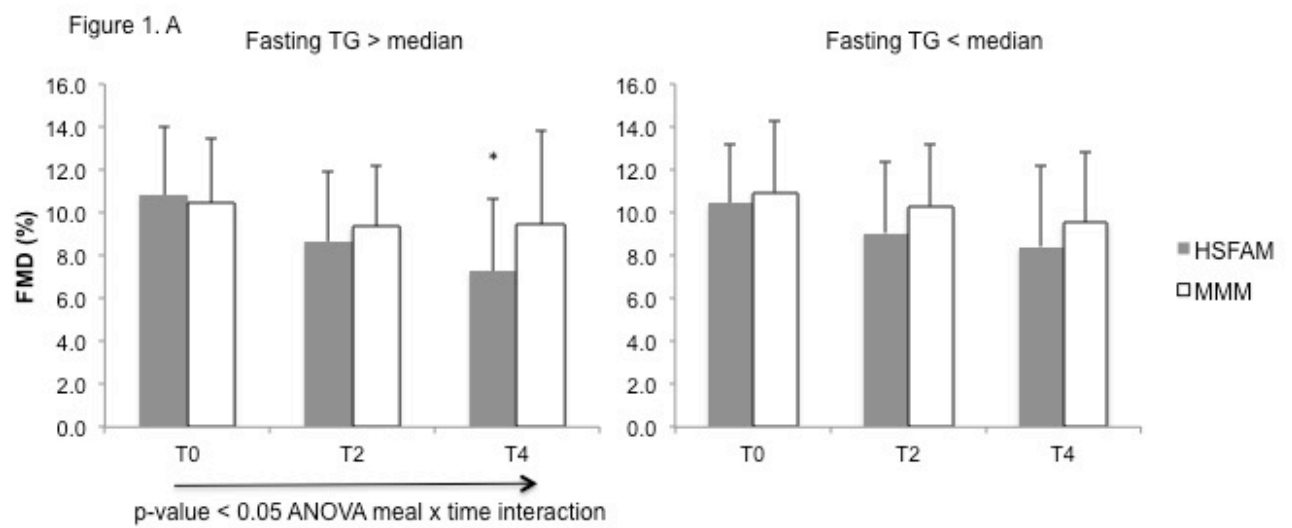
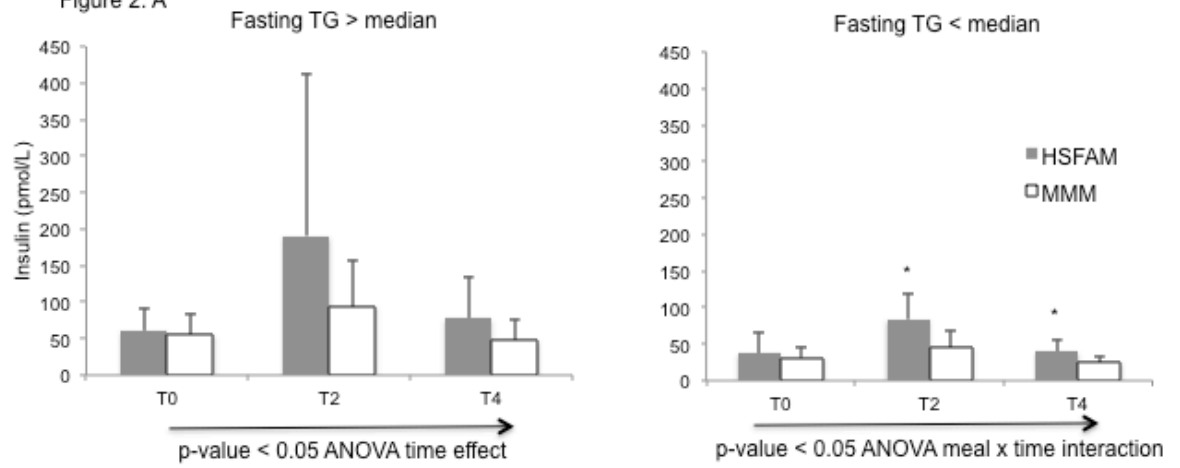


Figure 2. A



B

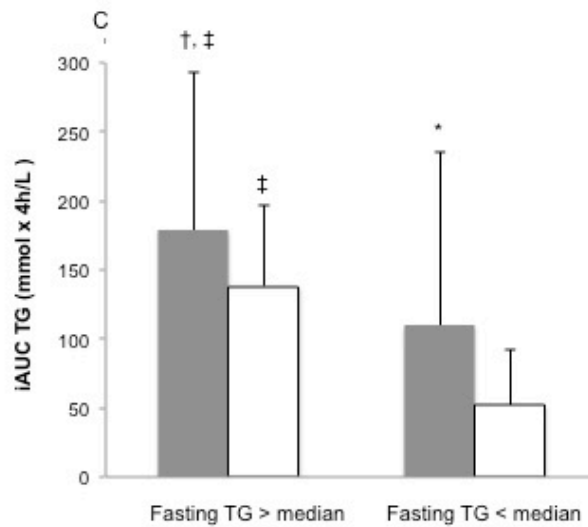
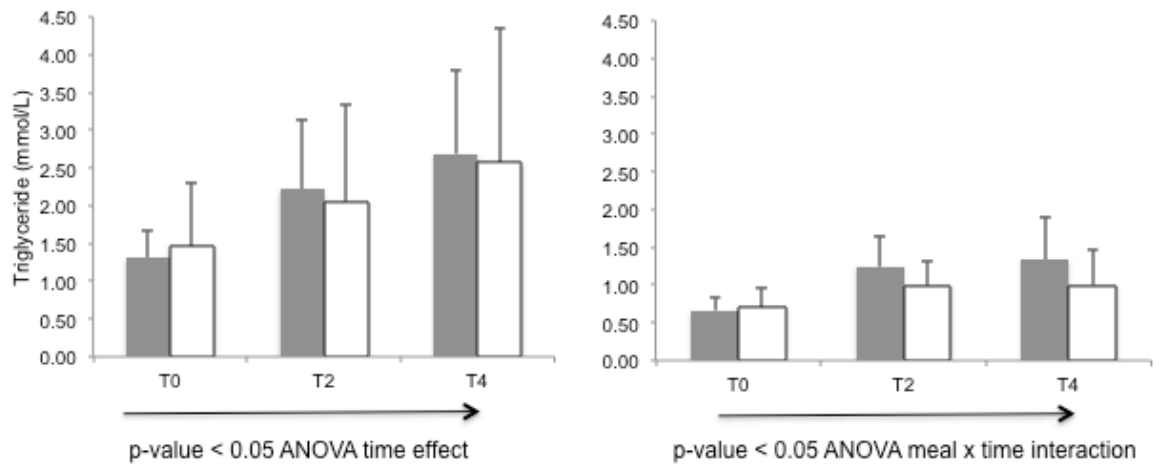
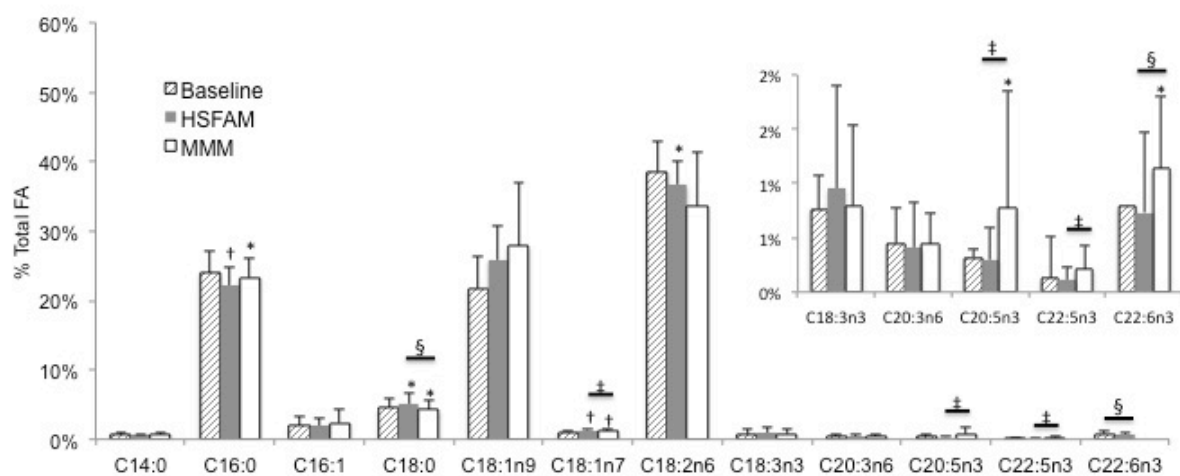
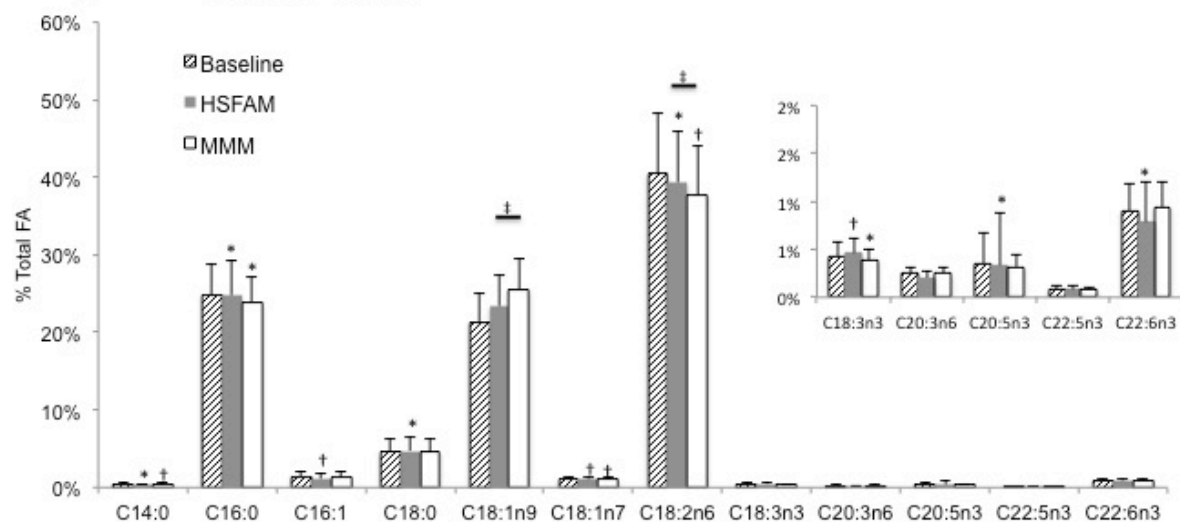


Figure 3. A Fasting TG > median



B. Fasting TG < median



6. Étude 2 – Reproductibilité de la spectroscopie proche de l'infrarouge

Reproductibilité de la spectroscopie proche de l'infrarouge durant l'occlusion artérielle brachiale et l'hyperhémie réactive chez des hommes sains

Reproducibility of near infrared spectroscopy parameters measured during brachial artery occlusion and reactive hyperemia in healthy men.

**Sébastien Lacroix^{1,2,3}, Mathieu Gayda^{1,3,4}, Vincent Gremeaux^{1,4-6}, Martin Juneau^{1,3,4},
Jean-Claude Tardif^{1,3,4}, Anil Nigam^{1,2,3,4}**

1- Cardiovascular Rehabilitation and Prevention Centre (ÉPIC), Montreal Heart Institute and "Université de Montréal" Montreal, Quebec, Canada, 2- Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada, 3- Research Center, Montreal Heart Institute and "Université de Montréal", Montreal, Quebec, Canada, 4- Department of Medicine, Faculty of Medicine, "Université de Montréal", Montreal, Canada, 5- Cognition, action and sensorimotor plasticity, Inserm U1093, Dijon, France, 6- Technological Investigation platform, Inserm CIC-P 803, CHU Dijon, France

Publié dans *Journal of Biomedical Optics*, 2012; 17(7) : 0770101-5

Reproducibility of near infrared spectroscopy parameters measured during brachial artery occlusion and reactive hyperemia in healthy men.

**Sebastien Lacroix^{1,2,3}, Mathieu Gayda^{1,3,4}, Vincent Gremeaux^{1,4,5}, Martin Juneau^{1,3,4},
Jean-Claude Tardif^{1,3,4}, Anil Nigam^{1,2,3,4}**

1. Cardiovascular Rehabilitation and Prevention Centre (ÉPIC), Montreal Heart Institute and "Université de Montréal" Montreal, Quebec, Canada.
2. Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada
3. Research Center, Montreal Heart Institute and "Université de Montréal", Montreal, Quebec, Canada.
4. Department of Medicine, Faculty of Medicine, "Université de Montréal", Montreal, Canada
5. Cognition, action and sensorimotor plasticity, Inserm U1093, Dijon, France
6. Technological Investigation platform, Inserm CIC-P 803, CHU Dijon, France

Abstract

Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) is a non-invasive technique evaluating microvascular function. The aim of this study was to assess the reproducibility of NIRS parameters during reactive hyperemia induced by a 5-minute brachial artery occlusion. Twenty-four healthy young males (mean 34 ± 8 years old) had two microvascular function evaluations by NIRS over a 7 to 30-day period (mean 16 ± 10 days). Intra-subject and inter-observer reproducibility were evaluated with intraclass correlation coefficient (ICC), coefficient of variation (CV), and standard error of measurement (SEM%) for every parameter. Mean NIRS parameters did not differ between both evaluations. Reproducibility was greatest for muscle oxygen consumption (ICC: 0.84; CV: 6.51%; SEM: 7.11%), time to basal O₂Hb (ICC: 0.63, CV: 20.04%, SEM 27.22%), time to maximal O₂Hb (ICC: 0.71; CV: 15.61%; SEM: 19.27%), peak of O₂Hb (ICC: 0.63, CV: 6.68%, SEM 8.53%), time to maximal tHb (ICC: 0.73, CV: 19.61%, SEM 24.56%) and area under the O₂Hb and tHb curves (ICC: 0.68, CV: 16.15%, SEM 22.93% and ICC: 0.62, CV: 18.59%, SEM 26.64% respectively). Moreover, inter-observer reproducibility ranged from excellent to perfect (ICC from 0.85 to 1.00) for every parameter. NIRS parameters during reactive hyperemia are highly reproducible which enables their repeated measurement to study microvascular function in healthy subjects.

Keywords: Reproducibility; Near-infrared spectroscopy; reactive hyperemia; cardiometabolic risk; microvascular function.

Introduction

Microvascular function is structurally dependent of microvascular density and capillary recruitment, and refers to small vessels (less than 150 μm) including arterioles, capillaries and venules ¹. Microvascular dysfunction is thought to contribute to insulin resistance and hypertension associated with obesity, and potentially links central adiposity with cardiovascular disease risk ¹. An impairment of microvascular function (measured by hyperemic velocity) was found to be predictive of future cardiovascular events in apparently healthy men ². Microvascular function assessed by fingertip temperature variation upon brachial artery occlusion was shown to correlate with coronary artery calcification, myocardial perfusion and insulin resistance in asymptomatic individuals ³⁻⁵.

Recently, assessment of microvascular function using near-infrared spectroscopy (NIRS) during a 5-minute brachial artery post-occlusive reactive hyperemia (PORH) was performed in healthy adults and in patients with peripheral arterial disease and CHF ⁶⁻¹⁰. It was also shown by our group that microvascular function measured by NIRS during PORH was impaired in patients with metabolic syndrome and coronary heart disease and that the degree of impairment was related to the number of cardiovascular risk factors ¹¹.

However, only one previous small study performed in 6 healthy subjects has documented the reproducibility of lower limb NIRS PORH parameters ⁸. Thus, studies reporting the reproducibility of NIRS parameters in evaluating microvascular function during forearm PORH are lacking. Such data would be of great interest since forearm PORH evaluation by NIRS is a simple, non-invasive, low-cost and less uncomfortable technic than lower limb microvascular function evaluation. This makes forearm PORH evaluation by NIRS the

method of choice to evaluate microvascular function in situations outside lower limb peripheral vascular disease. Furthermore, the inter-observer reproducibility of NIRS parameters measured during PORH has also not been established. The aims of this study were therefore 1) to evaluate the intra-subject reproducibility and 2) to evaluate the inter-observer reproducibility of forearm NIRS parameters measured during PORH in young healthy males.

Methods

Subjects

Twenty-four young healthy male subjects were recruited in the study. Participants were included if they were healthy non-smoking men, aged between 18 and 50 years and exempt from any cardiovascular risk factors or diseases. Exclusion criteria were LDL-cholesterol > 3.50 mmol/L, diagnosed (treated/untreated) hypertension (blood pressure $\geq 140/90$ mmHg), abdominal obesity (waist circumference ≥ 102 cm), diabetes mellitus and/or previous cardiovascular disease (coronary heart disease and/or heart failure). Subjects taking any pharmacological drugs, vitamin C or omega-3 polyunsaturated fatty acid supplements were also excluded from the study to control for potential impact on vascular function. Participants were told to refrain from any strenuous exercise and alcohol consumption the day prior to testing. This study was approved by the Montreal Heart Institute Ethics Committee and all subjects provided written informed consents.

Study protocol

Each subject underwent a medical history, a physical examination with measurement of height, weight, waist circumference and body composition with bio-electrical impedance

(Tanita, model BC418, Japan). A blood draw was also done to measure fasting blood glucose, insulin and lipid profile. Microvascular function assessment by NIRS during forearm PORH was repeated on two different occasions separated by a minimum of 7 and a maximum of 30 days (16 ± 10 days). Assessments were performed in the early morning (8:30-9:00 am) while subjects were overnight-fasted and resting in a supine position in a quiet, dimly lit and temperature controlled room (22-25 °C). An automated pneumatic cuff inflator (Hokanson model E20, USA) was positioned above the right elbow and NIRS optodes were positioned below the elbow on the right brachio-radialis muscle with an inter-optode distance of 45 mm. The optodes were attached to the skin of participants with adhesive stickers so the angle and position of the optodes were kept constant. Optodes were connected to a continuous-wave NIRS (Oxymon, Artinis Medical Systems, Nijmegen, Netherlands) that generated light at 905, 850 and 770 nm, which differentiated between oxy- and deoxyhaemoglobin/myoglobin (O_2Hb/O_2Mb and HHb/HMb respectively) ^{12, 13}. For convenience, both haemoglobin and myoglobin will be referred to as haemoglobin since their respective spectrum cannot be distinguished. The changes in absorption at the discrete wavelengths were converted into concentration changes of O_2Hb and HHb (μM) using a modified Lambert–Beer law in which a path-length factor was incorporated to correct for scattering of photons in the tissue ¹⁴. The sum of both signals represented total haemoglobin (tHb). To correct for scattering of photons in the tissue, a differential path-length factor of 4.0 was used for the calculation of absolute concentration changes ^{13, 15}. NIRS acquisition was done continuously during a 2-minute pre-occlusive rest period, 5-minute occlusion (pressure cuff inflated at 100 mm Hg over the systolic blood pressure) and a 5-minute post-occlusive period ^{7, 11}. NIRS signals were sampled at 10 Hz, displayed in real time and stored on a hard drive for off-line software analysis (Oxysoft, Artinis Medical Systems, Netherlands).

Figure 1 shows typical NIRS signals for O₂Hb, HHb and tHb that are used for off-line NIRS parameters analysis. 1) Muscle oxygen consumption (mVO₂) (mlO₂/min/100g) was measured by evaluating the rate of decrease of O₂Hb during arterial occlusion $[-d(O_2Hb)/dt]$ ^{7, 11-13}. Concentration changes of O₂Hb were expressed in μ M/s and converted to mlO₂/min/100g^{12, 13}. A value of 1.04 kg/L was used for muscle density^{12, 13}. The following NIRS parameters were measured during PORH: 2) ½ time recovery of the O₂Hb (1/2T O₂Hb) (s): time after release of the cuff until the initial pre-occlusion O₂Hb values are reached, 3) time to maximal O₂Hb (TO₂Hb) (s): time between the release of the cuff and the maximum value of O₂Hb is reach, 4) maximal amplitude of O₂Hb (Hmax O₂Hb) (μ M): maximal amplitude of post-occlusion O₂Hb signal, 5) maximal amplitude of tHb (Hmax tHb) (μ M): peak value of post-occlusive tHb, 6) time to maximal tHb (TtHb) (s): time between the release of the cuff and the maximum value of tHb is reach, 7) Increase rate to max O₂Hb (μ M/s) was calculated by dividing maximal amplitude of O₂Hb by time to maximal O₂Hb, 8) Increase rate to max tHb (μ M/s) was calculated by dividing HRmax of tHb by time to Hmax of tHb, 9) post-occlusion area under the curve of O₂Hb (AUC O₂Hb) (arbitrary unit; a.u) is the area under the 5-minute post-occlusion O₂Hb curve, 10) post-occlusion area under the curve of HHb (AUC HHb) (a.u) is the area under the 5-minute post-occlusion HHb curve, 11) post-deflation area under the curve of tHb (AUC tHb) (a.u) is the area under the 5-minute post-occlusion tHb curve^{7, 11}.

Statistical analysis

Data were analyzed using Statview software (SAS, U.S.A, version 5.0) and are presented as mean \pm standard deviation except where otherwise indicated. Normal distribution of the data was verified by a Shapiro-Wilk test and data were transformed logarithmically when this

criteria was not met. For continuous variables, statistical differences between tests were evaluated by a one-way ANOVA with repeated measure. A p-value ≤ 0.05 was considered significant. Intra-subject reproducibility was obtained by comparing NIRS parameters evaluated on two different occasions, in the same subjects. Inter-observer reproducibility was obtained by having two observers familiar with the methodology calculate each NIRS parameter for the same NIRS evaluation of every subject. The relative reproducibility, defined by the degree to which individuals maintain their rank order in a sample with repeated measurements ^{16, 17}, was assessed by the intraclass correlation coefficient (ICC) ¹⁶. An ICC ≤ 0.20 was defined as poor, an ICC between 0.21-0.40 was defined as fair, an ICC between 0.41 and 0.60 was defined as satisfactory, an ICC between 0.61 and 0.80 was defined as good and an ICC ≥ 0.81 was defined as an excellent agreement between both evaluations ¹⁸. Absolute reproducibility was evaluated with coefficient of variation (CV) [SD / average of every parameter x100] and standard error of measurement (SEM) calculated as recommended by Hopkins (SEM(%) = SEM / average of both evaluations x 100) ¹⁶. SEM represents the degree to which repeated measurements vary for a given individual (i.e. trial-to-trial noise) and will be presented as a percentage of the average of both evaluations ^{16, 17}.

Results

Baseline characteristics

Baseline characteristics of the study population are given in table 1. Subjects were healthy young males, without any cardiovascular risk factors or diseases. Study subjects had normal body composition and blood glucose, insulin and lipid levels.

Microvascular function reproducibility

Table 2 describes mean NIRS parameters measured during both PORH and shows that mean NIRS parameters did not differ significantly. Table 3 describes intra-subject reproducibility of NIRS parameters measured during both PORH. Most parameters had good ($\frac{1}{2}\text{TO}_2\text{Hb}$, TO_2Hb , $\text{Hmax O}_2\text{Hb}$, TtHb , $\text{AUC O}_2\text{Hb}$ and AUC tHb , ICC ranging from 0.62 to 0.73) to excellent (mVO_2 , ICC of 0.84) intra-subject reproducibility. The less reproducible NIRS parameters classified as poor to satisfactory were: Hmax tHb , increase rates to max. tHb and O_2Hb and AUC HHb ; ICC: 0.31 to 0.59). Table 4 describes inter-observer reproducibility of NIRS parameters measured during both PORH. Inter-observer reproducibility of all NIRS parameters ranged from excellent to perfect (ICC ranging from 0.85 to 1.00).

Discussion

The main findings of the present study were that 1) intra-subject relative reproducibility of microvascular function assessed by NIRS during PORH ranged from good to excellent for most parameters and that 2) excellent inter-observer relative reproducibility of microvascular function assessed by NIRS during PORH was obtained for all parameters. This study is the first to document intra-subject relative and absolute reproducibility of such a variety of NIRS parameters during brachial PORH and is the first to document their inter-observer relative and absolute reproducibility.

Relative intra-subject reproducibility

Relative intra-subject reproducibility (ICC) of mVO_2 , $\frac{1}{2}\text{TO}_2\text{Hb}$, TO_2Hb , $\text{Hmax O}_2\text{Hb}$, TtHb , $\text{AUC O}_2\text{Hb}$ and AUC tHb ranged from good to excellent when assessed by NIRS during PORH in young healthy males. Among these parameters, mVO_2 is the most often studied

since it is the ultimate measure of resting muscle metabolic rate and reflects resting muscle oxygen consumption ⁶. The average mVO₂ obtained from our study (0.0602±0.01 ml O₂/min/100g) agreed with previously published data measured in the forearm of healthy subjects (0.05±0.01 to 0.21±0.01 mlO₂/min/100g) ¹³. The assessment of forearm mVO₂ is of particular interest since it was shown to be significantly reduced in patients with CHF ^{6,9}, metabolic syndrome ¹¹ and with chronic or acute smoking ¹⁰. Lowered mVO₂ reflects lower muscular ability to extract oxygen and impaired mitochondrial function ⁶.

Other NIRS parameters that showed good relative intra-subject reproducibility reflect the ability of muscle to recruit arterioles and capillaries during reperfusion. Of these parameters, Hmax O₂Hb, Hmax tHb and AUC O₂Hb were recently shown by our group to be impaired in patients with metabolic syndrome and/or coronary heart disease ¹¹. Additionally, impairment of these parameters was related to the number of cardiovascular risk factor (ranging from 0 to 4-5 risk factors) independently of cardiovascular status (healthy, metabolic syndrome or coronary artery disease patients) ¹¹. Time to maximal O₂Hb, TtHb and Hmax O₂Hb are also significantly affected by peripheral arterial disease (longer TO₂Hb and TtHb and lower Hmax O₂Hb values) ^{7, 19}. A parameter similar to increased rate O₂Hb (named tissue oxygen saturation rate) was impaired in CHF and is predictive of reduced VO₂peak and inefficient ventilatory capacity ^{9, 20}. Microvascular function can also be improved by lifestyle interventions ²¹ (such as exercise training) and NIRS can be useful in assessing the impact of such interventions ²². In fact, a 3-month exercise-training program in patients with CHF increased the AUC O₂Hb and increased rate O₂Hb during PORH ^{21,22}. This demonstrates that increased physical activity improved muscular arteriolar and capillary recruitment and

increased the speed of reperfusion ⁹ and adds to the interest of having a simple and reliable method to evaluate such microvascular improvements in the clinical setting.

Absolute intra-subject reproducibility

Absolute intra-subject reproducibility assessed with CV and SEM is important to determine the usefulness of NIRS parameters in evaluating the impact of therapeutic interventions (lifestyle or treatment) on microvascular function. We obtained CVs ranging from 6.51% (mVO₂) to 21.71%. To our knowledge, only van Beekvelt et al. calculated CVs for forearm PORH parameters and obtained a CV of 17.6% for mVO₂ ¹³. Absolute reproducibility was also studied for other NIRS parameters by Kragelj et al. who obtained higher CV for mVO₂, ½TO₂Hb, TO₂Hb, Hmax O₂Hb and TtHb following lower limb ischemia in healthy subjects ⁸. Our study therefore shows improved CV, which could be attributed to our larger sample size and to methodological differences (i.e. ease of NIRS measurement at the forearm, longer occlusion period and use of an automated pressure cuff inflator). In fact, a rapid cuff pneumatic inflator eliminating the short venous occlusion inevitable when inflating by hand could have lowered variation of measurement ^{7, 8}.

The SEM allows for identification of the minimal detectable change needed to identify statistically important variations between two evaluations of a single subject that cannot be attributed to measurement error. Standard error of measure has already been calculated for some NIRS parameters upon leg artery occlusion ^{7, 8} but has never been assessed during forearm PORH.

Inter-observer reproducibility

Inter-observer relative reproducibility of all NIRS parameters was found to be excellent meaning that evaluation of the same NIRS signal by two observers is expected to yield very similar results. Absolute inter-observer reproducibility (CV and SEM) of most NIRS parameters was very small and was lower than that found for intra-subject reproducibility. These important findings indicate that NIRS testing can be performed by different trained-observers and add to the ease of use of this method by eliminating the need for analysis to be done centrally in multicenter studies.

Limitations

Firstly, this sub-study was part of a principal study only including young male subjects, free of cardiovascular risk factors. Females were excluded from the main study to eliminate potential variations in endothelial function related to the menstrual cycle. There is however no reason to believe that reproducibility of microvascular function using NIRS during PORH would be affected by gender. Secondly, there was a broad variation in the length of time between evaluations (from 7 to 30 days). Shorter and constant length between visits, reducing the potential impact of changes in dietary habits, sleep patterns and stress level variations, might have yielded more reproducible results. On the other hand, the present study demonstrated NIRS parameters to be reproducible over a 7 to 30-day period, which enables their use in studies spanning such periods of time.

In conclusion, intra-subject and inter-observer reproducibility of NIRS parameters during PORH was assessed and showed that a majority of parameters had good to excellent intra-subject reproducibility and that every parameters had excellent inter-observer reproducibility

²³. Further studies are now needed in patients with cardiovascular risk factors or diseases and in elderly subjects. However, reproducibility of repeated measurement of fasting NIRS parameters in patients with stable conditions and medications should be similar to what was described previously. The impact of lifestyle interventions such as dietary habit modifications and physical activity and therapeutic interventions on NIRS parameters should also be evaluated. There is also a need for standardisation of NIRS parameter nomenclature and occlusion protocols to enhance the comparability of future studies.

Acknowledgments

Funding

Dr. Nigam is funded by “Fonds de Recherche en Santé du Québec”

Dr. Gayda is funded by the ÉPIC Centre and Montreal Heart Institute Foundations.

Declaration of interest

The authors of this study have no relevant interest to declare.

References

1. Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda)*. Aug 2007;22:252-260.
2. Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, et al. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation*. Jan 18 2011;123(2):163-169.
3. Ahmadi N, Nabavi V, Nuguri V, et al. Low fingertip temperature rebound measured by digital thermal monitoring strongly correlates with the presence and extent of coronary artery disease diagnosed by 64-slice multi-detector computed tomography. *Int J Cardiovasc Imaging*. Oct 2009;25(7):725-738.
4. Ahmadi N, Tirunagaram S, Hajsadeghi F, et al. Concomitant insulin resistance and impaired vascular function is associated with increased coronary artery calcification. *Int J Cardiol*. Sep 24 2010;144(1):163-165.
5. Ahmadi N, Usman N, Shim J, et al. Vascular dysfunction measured by fingertip thermal monitoring is associated with the extent of myocardial perfusion defect. *J Nucl Cardiol*. May-Jun 2009;16(3):431-439.
6. Abozguia K, Phan TT, Shivu GN, et al. Reduced in vivo skeletal muscle oxygen consumption in patients with chronic heart failure--a study using Near Infrared Spectrophotometry (NIRS). *Eur J Heart Fail*. Jul 2008;10(7):652-657.
7. Kragelj R, Jarm T, Erjavec T, Presern-Strukelj M, Miklavcic D. Parameters of postocclusive reactive hyperemia measured by near infrared spectroscopy in patients

- with peripheral vascular disease and in healthy volunteers. *Ann Biomed Eng.* Apr 2001;29(4):311-320.
8. Kragelj R, Jarm T, Miklavcic D. Reproducibility of parameters of postocclusive reactive hyperemia measured by near infrared spectroscopy and transcutaneous oximetry. *Ann Biomed Eng.* Feb 2000;28(2):168-173.
 9. Manetos C, Dimopoulos S, Tzanis G, et al. Skeletal muscle microcirculatory abnormalities are associated with exercise intolerance, ventilatory inefficiency, and impaired autonomic control in heart failure. *J Heart Lung Transplant.* Dec 2011;30(12):1403-1408.
 10. Siafaka A, Angelopoulos E, Kritikos K, et al. Acute effects of smoking on skeletal muscle microcirculation monitored by near-infrared spectroscopy. *Chest.* May 2007;131(5):1479-1485.
 11. M. Gayda MJ, J.C. Tardif, J. Lambert, A. Nigam. Effects of cardiovascular risk factors on macrovascular endothelial function and microvascular reactivity assessed with near-infrared spectroscopy in adults with different cardiovascular status. *Eur Heart J.* 2011;32(suppl. 1):857.
 12. Van Beekvelt MC, Colier WN, Wevers RA, Van Engelen BG. Performance of near-infrared spectroscopy in measuring local O₂ consumption and blood flow in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* Feb 2001;90(2):511-519.
 13. van Beekvelt MC, van Engelen BG, Wevers RA, Colier WN. In vivo quantitative near-infrared spectroscopy in skeletal muscle during incremental isometric handgrip exercise. *Clin Physiol Funct Imaging.* May 2002;22(3):210-217.

14. Livera LN, Spencer SA, Thorniley MS, Wickramasinghe YA, Rolfe P. Effects of hypoxaemia and bradycardia on neonatal cerebral haemodynamics. *Arch Dis Child*. Apr 1991;66(4 Spec No):376-380.
15. van Beekvelt MC, Borghuis MS, van Engelen BG, Wevers RA, Colier WN. Adipose tissue thickness affects in vivo quantitative near-IR spectroscopy in human skeletal muscle. *Clin Sci (Lond)*. Jul 2001;101(1):21-28.
16. Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Med*. Jul 2000;30(1):1-15.
17. Atkinson G, Nevill AM. Statistical methods for assessing measurement error (reliability) in variables relevant to sports medicine. *Sports Med*. Oct 1998;26(4):217-238.
18. Altman D. *Practical Statistics for Medical Research*. London 1991.
19. Kooijman HM, Hopman MT, Colier WN, van der Vliet JA, Oeseburg B. Near infrared spectroscopy for noninvasive assessment of claudication. *J Surg Res*. Sep 1997;72(1):1-7.
20. Nanas S, Gerovasili V, Dimopoulos S, et al. Inotropic agents improve the peripheral microcirculation of patients with end-stage chronic heart failure. *J Card Fail*. Jun 2008;14(5):400-406.
21. Pasqualini L, Schillaci G, Innocente S, et al. Lifestyle intervention improves microvascular reactivity and increases serum adiponectin in overweight hypertensive patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. Feb 2010;20(2):87-92.
22. Gerovasili V, Drakos S, Kravari M, et al. Physical exercise improves the peripheral microcirculation of patients with chronic heart failure. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. Nov-Dec 2009;29(6):385-391.

23. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Jan 2011;300(1):H2-12.

Tables

Table 1. Baseline characteristics of study subjects (n=24)

Age (yr)	34.0 ± 8.2
Weight (kg)	77.88 ± 10.12
Height (cm)	176.54 ± 5.79
BMI (kg/m ²)	25.04 ± 3.25
Waist circumference (cm)	91.43 ± 9.56
Body fat (%)	18.10 ± 6.87
Glucose (mmol/L)	4.72 ± 0.37
Insulin (pmol/L)	40 ± 23
HOMA-IR	8.08 ± 5.09
Total Cholesterol (mmol/L)	4.62 ± 0.97
LDL Cholesterol (mmol/L)	2.84 ± 0.89
HDL Cholesterol (mmol/L)	1.33 ± 0.39
Triglycerides (mmol/L)	0.99 ± 0.59
Total Cholesterol/HDL-C	3.78 ± 1.40
Blood pressure (mmHg)	119/73 ± 7/7
FMD (%)	10.66 ± 3.20
Active smoker	0

Table 2. NIRS parameters measured during post-occlusive reactive hyperemia.

	1 st test	2 nd test	p-value
mVO ₂ (ml O ₂ /min/100g)	0.0602 ± 0.010	0.0602 ± 0.011	0.99
½TO ₂ Hb (s)	18.2 ± 8.1	20.1 ± 8.9	0.44
TO ₂ Hb (s)	41.1 ± 16.0	42.7 ± 13.9	0.72
Hmax O ₂ Hb (μM)	28.05 ± 3.15	27.92 ± 4.55	0.91
Hmax tHb (μM)	10.56 ± 1.80	10.18 ± 1.92	0.49
TtHb (s)	22.8 ± 11.3	23.9 ± 10.9	0.75
Increase rate to max O ₂ Hb (μM/s)	0.75 ± 0.22	0.73 ± 0.27	0.73
Increase rate to max tHb (μM/s)	0.52 ± 0.16	0.49 ± 0.20	0.58
AUC O ₂ Hb (a.u.)	995 ± 372	889 ± 388	0.34
AUC HHb (a.u.)	161 ± 251	167 ± 239	0.93
AUC tHb (a.u.)	834 ± 359	722 ± 315	0.26

Table 3. Intra-subjects reproducibility of NIRS parameters during post-occlusive reactive hyperemia

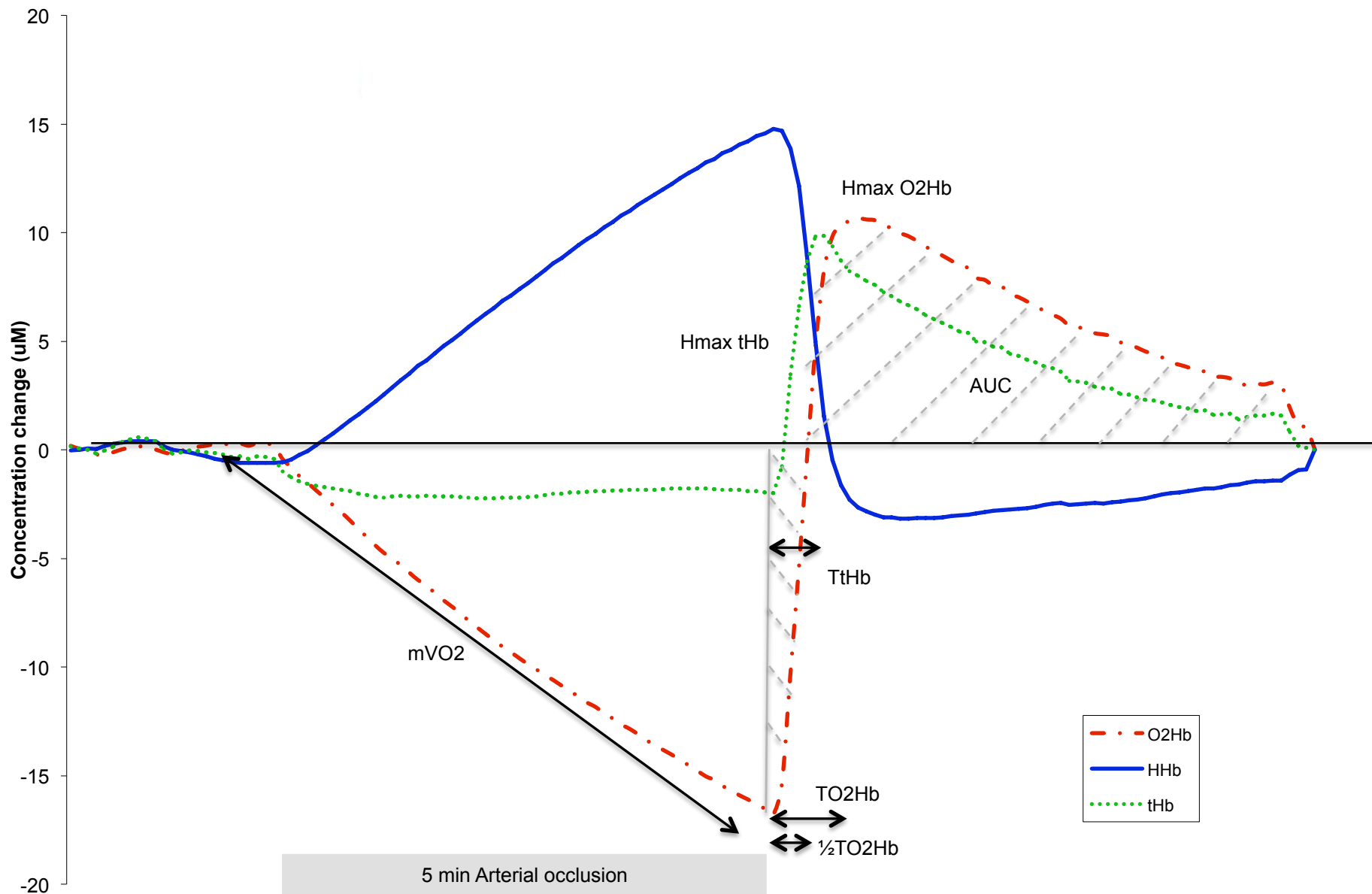
	ICC	CV (%)	SEM (%)
mVO ₂ (ml O ₂ /min/100g)	0.84	6.51	7.11
$\frac{1}{2}$ TO ₂ Hb (s)	0.63	20.04	27.22
TO ₂ Hb (s)	0.71	15.61	19.27
Hmax O ₂ Hb (μM)	0.63	6.68	8.53
Hmax tHb (μM)	0.31	13.32	14.91
TtHb (s)	0.73	19.61	24.56
Increase rate to max O ₂ Hb (μM/s)	0.59	15.30	21.34
Increase rate to max tHb (μM/s)	0.42	21.71	27.18
AUC O ₂ Hb (a.u.)	0.68	16.15	22.93
AUC HHb (a.u.)	0.41	20.37	114.10
AUC tHb (a.u.)	0.62	18.59	26.64

Table 4. Inter-observer reproducibility of NIRS parameters during post-occlusive reactive hyperemia

	ICC	CV (%)	SEM (%)
mVO ₂ (mlO ₂ /min/100g)	0.98	1.14	2.10
$\frac{1}{2}$ TO ₂ Hb (s)	0.99	3.83	4.21
TO ₂ Hb (s)	0.95	3.21	8.83
Hmax O ₂ Hb (μM)	1.00	0.73	0.91
Hmax tHb (μM)	1.00	0.52	0.82
TtHb (s)	0.92	4.70	12.99
Increase rate to max O ₂ Hb (μM/s)	0.98	3.31	5.21
Increase rate to max tHb (μM/s)	0.85	5.11	14.78
AUC O ₂ Hb (a.u.)	0.97	8.32	9.50
AUC HHb (a.u.)	0.97	50.75	35.19
AUC tHb (a.u.)	0.96	7.74	8.99

Figure

Figure 1. Typical representation of NIRS signals during arterial occlusion and post-occlusive reactive hyperemia.



7. Étude 3 – Fonction microvasculaire postprandiale

La fonction microvasculaire postprandiale est influencée différemment par un repas de type méditerranéen et par un repas riche en acides gras saturés chez des hommes sains avec des niveaux à jeun élevés, mais normaux de triglycérides.

Postprandial microvascular function is differentially influenced by a single Mediterranean-type meal and a high-saturated fat meal in healthy males with high-normal fasting triglyceridemia

Lacroix S ^{a,b,c}, Gayda M ^{a,b,d}, Des Rosiers C ^{b,c}, Thorin E ^{b,e}, Tardif JC ^{b,d} and Nigam A ^{a,b,c,d}

^a Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montreal Heart Institute, Montreal, Canada ^b Montreal Heart Institute Research Center, Montreal, Canada ^c Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada ^d Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada ^e Department of Surgery, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

Article au format de *Nutrition, metabolism and Cardiovascular Diseases* en vue d'une soumission prochaine.

Postprandial microvascular function is differentially influenced by a single Mediterranean-type meal and a high-saturated fat meal in healthy males with high-normal fasting triglyceridemia

Lacroix S ^{a,b,c}, Gayda M ^{a,b,d}, Des Rosiers C ^{b,c}, Thorin E ^{b,e}, Tardif JC ^{b,d} and Nigam A ^{a,b,c,d}

^a Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre, Montreal Heart Institute, Montreal, Canada

^b Montreal Heart Institute Research Center, Montreal, Canada

^c Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

^d Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

^e Department of Surgery, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

Word count: 211 for abstract and 1779 text including title page, text, and acknowledgements

25 references, 2 tables and 1 supplementary table

Abstract

Background and aims: Microvascular function is involved in insulin resistance and hypertension and it refines cardiovascular risk assessment. Although rarely investigated in the postprandial period, microvascular function could be impaired by ingestion of a high-saturated fatty acid meal (HSFAM) and might be improved by omega-3 PUFA. The aim of the present study was to evaluate the microvascular response to a single meal rich in omega-3 PUFA reflective of the cardioprotective Mediterranean diet in healthy males with varying levels of normal fasting triglyceridemia. **Methods and results:** Twenty-eight (28) healthy males were divided according to fasting triglyceridemia (above or below median) and randomly fed a mixed Mediterranean meal (MMM) or a HSFAM on separate days. Microvascular function was assessed using near-infrared spectroscopy (NIRS) on the brachio-radialis muscle during post-ischemic reactive hyperemia in the fasted and 4-hour post-meal ingestion. In individuals with fasting triglyceridemia above the median, both meals delayed post-ischemic reoxygenation while only the HSFAM impaired post-ischemic capillary recruitment. Postprandial NIRS parameters were unaffected in individuals with fasting triglyceridemia below group median. **Conclusion:** Fasting triglyceridemia in normal ranges influences postprandial microvascular response to nutritional challenges in such ways that only individuals with high-normal triglyceridemia experienced meal-induced microvascular dysfunctions. Interestingly, the postprandial microvascular impairments induced by the MMM seemed to be of lesser extent.

Keywords: Near-infrared spectroscopy, Post-ischemic reoxygenation, reperfusion, insulin-dependant capillary recruitment

INTRODUCTION

The industrial revolution has modified lifestyle habits in such ways that most of awoken time is now spent in the postprandial state because of increased meal size and frequency. Furthermore, increased consumption of transformed food items rich in sugars and saturated fatty acids (SFA) contribute in increasing dietary insults on postprandial metabolic and vascular functions, which contribute to development of cardiovascular risk factors, atherosclerotic plaques and cardiovascular diseases. Typical North American meals such as those high in saturated fatty acids (SFA) have been associated to postprandial impairments of endothelial-dependant dilatation of large brachial arteries, an impact that seemed to be exacerbated in individuals with abnormal metabolic profile [1]. Conversely, a meal typical of the Mediterranean diet, representative of the pre-industrialized era and known for its cardioprotective properties, did not impair postprandial endothelial function in healthy males with varying levels of fasting triglyceridemia [2].

Microvascular function, relative to resistance arterioles and capillaries, is thought to influence the vasodilatation of larger conduit arteries [3] and could thus be involved in postprandial impairments of endothelial-dependant dilatation. Impairments of microvascular function precede and predict obesity-related insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension [4, 5], discriminate between cardiovascular profiles [6-10], influence cardiovascular risk evaluation [11] and are normalized by exercise training [12-14]. The few studies that have evaluated the influence of nutritional challenges on microvascular function have showed that it could be impaired by a high-SFA meal (HSFAM) [15] and improved by omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) [16]. This thus warrants the need for further

evaluation of the potentially beneficial effect of a single mixed Mediterranean meal (MMM) on microvascular function.

We thus aim to investigate the impact of a MMM on microvascular function in comparison to those induced by a HSFAM on near-infrared spectroscopy (NIRS) parameters during reactive hyperemia in healthy males with varying levels of normal fasting triglyceridemia. This technology is a simple and recently validated technique that directly assesses multiple aspects of peripheral muscular microvascular function during reactive hyperemia [17, 18].

METHODS

Study population

This study enrolled 28 male subjects aged 18 to 50 years and free of any cardiovascular risk factors or diseases were recruited from the Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Centre (EPIC) of the Montreal Heart Institute [2]. Volunteers taking omega-3 PUFA or antioxidant vitamins supplements were excluded. Subjects were divided into two groups, above (high-normal or hnTG) and below (low-normal or lnTG) the median fasting triglyceridemia as basal triglyceridemia was shown to influence postprandial endothelial function [19]. All subjects gave informed consent and the study was approved by the local scientific and ethics boards.

Intervention

Study participants were randomly assigned to two different meal sequences separated by a minimum of seven and a maximum of 30 days according to a crossover design (MMM – HSFAM or HSFAM – MMM). The MMM consisted of fresh salmon with onions and almond

pesto served with green beans, cherry tomatoes and potatoes all baked in extra-virgin olive oil (51% of total calories from fat with 7.87g SFA and 2.29g omega-3 PUFA). The HSFAM consisted of a commercially-prepared sausage, egg and cheese breakfast sandwich with three hashbrowns (58% of total energy from fat and 14.78g SFA). Meals were prepared on the morning of each test day. The nutritional composition of test meals is listed in supplementary table 1. Nutritional contents were matched for most macro- and micronutrients with the exception of SFA and omega-3 PUFA, fibres, and vitamin C. Meals were consumed in the early morning (9:00 – 9:30 am) after an overnight fast. Subjects were asked to refrain from strenuous exercise and alcohol consumption for 24 hours prior to both study visits.

Anthropometric measures and blood samples

Subjects underwent a physical examination with measurement of height, body mass and body composition with bio-electrical impedance (Tanita BC418, Tanita Corporation, Japan). Blood samples were drawn for glucose, insulin and lipid profiling in the fasted and 4-hour postprandial states.

Microvascular function

Microvascular function was evaluated by brachial NIRS in the fasted and 4-hour postprandial states as per a validated and reproducible methodology. Briefly, NIRS optodes (45mm inter-optode distance) were positioned below the right elbow on the brachio-radialis muscle and were connected to a continuous-wave NIRS (Oxymon Mk III, Artinis Medical Systems B.V., Netherlands) that differentiates between oxy- and deoxyhaemoglobin (O₂Hb and HHb respectively) and calculates total haemoglobin (tHb) by addition. NIRS acquisition was done

continuously during 2-minute baseline, 5-minute arterial occlusion at 80mmHg over the systolic pressure and 5-minute post-occlusive periods. Muscle oxygen consumption (mVO_2) ($ml\ O_2/min/100g$) was measured during ischemia while the following parameters were measured during post-occlusive reactive hyperemia : 1) half time to maximal O_2Hb ($\frac{1}{2}TO_2Hb$) (s), 2) total time to maximal O_2Hb (TO_2Hb) (s), 3) maximal amplitude of O_2Hb ($Hmax\ O_2Hb$) (μM), 4) time to maximal tHb ($TtHb$) (s) 5) maximal amplitude of tHb ($Hmax\ tHb$) (μM) and 6) increase rates to maximal O_2Hb and tHb ($\mu M/s$) [8, 17].

Statistical analysis

Non-parametric Wilcoxon signed-rank test and Mann Whitney test were used to analyze microvascular NIRS parameters. All data are presented as means \pm SD. All tests were conducted at the 0.05 significance level. Analyses were done using Statview 5.0 software (SAS Institute Inc., USA).

RESULTS

Demographic and anthropometric data are presented in table 1. Mean age was 33.8 ± 8.3 years and mean BMI was $25.2 \pm 3.1\ kg/m^2$. Besides triglyceridemia, body fat mass percentage, trunk fat mass percentage and HOMA-IR were significantly higher in the hnTG compared to the lnTG group.

Microvascular function

Baseline NIRS parameters were similar between both sub-groups (table 2). In hnTG subjects, both meals increased times required to reach maximal post-ischemic O_2Hb values (i.e. $\frac{1}{2}TO_2Hb$, TO_2Hb and increase rate to O_2Hb) while the HSFAM increased time needed to

reach maximal tHb values (i.e. TtHb and increase rate to tHb). Maximal post-ischemic O₂Hb and tHb amplitudes were unaffected in the postprandial state. Postprandial post-occlusive NIRS parameters were unaffected in hnTG subjects following both meals.

DISCUSSION

This is the first study to investigate the influence of two single meals reflective of the North-American (HSFAM) and Mediterranean diets on postprandial microvascular function assessed with NIRS during reactive hyperemia. Our observations indicate that postprandial microvascular response was influenced by baseline fasting triglyceridemia as such that only healthy individual with hnTG experienced impairments. Furthermore, our results also suggest that the MMM seemed to have a lesser impact on NIRS parameters than the HSFAM in that sub-group of individuals.

The first important finding of the study is that both meals delayed half-recovery times and total times to O₂Hb ($\frac{1}{2}$ TO₂Hb and TO₂Hb) in hnTG subjects. Half-recovery time to O₂Hb is dependant of the balance between muscular oxygenated blood influx and utilisation and reflects post-occlusive reoxygenation capabilities [18]. Since postprandial mVO₂ (reflecting muscular oxygenated blood utilisation) were not different from those measured at baseline in the hnTG sub-group, we hypothesize that delayed postprandial $\frac{1}{2}$ TO₂Hb is due to impaired postprandial muscular oxygenated blood influx. Prolonged post-ischemic $\frac{1}{2}$ TO₂Hb are reflective of lower blood flow [20], are linked to peripheral vascular diseases [21] and are normalized by exercise training [14]. A second interesting result is the prolongation of TtHb and increase rate to tHb in hnTG subjects following the HSFAM. These parameters reflect capillary blood volume per unit of time during reactive hyperemia and are thus markers of

post-ischemic reperfusion kinetics. Interestingly, TtHb and increase rate to tHb were shown to be inversely related to the number of cardiovascular risk factors [8] and to distinguish between cardiovascular profile [6]. These observations could reveal that hnTG individuals experienced defects in post-ischemic capillary recruitment and/or microvascular nitric oxide synthesis following HSFAM and, to a lesser extent, MMM ingestion. Since these processes are both primarily insulin-dependant, the hnTG sub-group might have experienced a state of transient postprandial muscular insulin resistance [4, 22]. Spearman correlations support this hypothesis by showing associations between $\frac{1}{2}\text{TO}_2\text{Hb}$ or TtHb and postprandial insulinemic response following the HSFAM ($\delta = 0.584$ $p < 0.05$ and 0.479 $p < 0.1$ respectively). Additionally, variations in those NIRS parameters were beyond the level of clinical significance (absolute reproducibility, CV%) only following the HSFAM [17].

Altogether, our results suggest that healthy individuals with marginal metabolic profile (i.e. higher trunk fat mass, triglyceridemia and HOMA-IR) could experience similar postprandial microvascular impairments than individuals with overt pathological metabolic dysfunction. Indeed, van Genugten et al. observed that subjects with metabolic syndrome and with fasting triglyceridemia in ranges similar to hnTG subjects (1.6 mmol/L [1.4 - 2.4]) had blunted postprandial hyperemic capillary recruitment, which resulted in lower hyperemic capabilities following a high-fat meal in comparison to healthy subjects with low triglyceridemia (0.9 mmol/L [0.7 - 1.2]) [23]. Postprandial rise in circulating triglycerides that was more important in individuals with hnTG following both meals [2] could have increased postprandial levels of oxidative stress and/or inflammatory cytokine (namely $\text{TNF}\alpha$ [24]) and explain our findings.

Limitations and conclusion

The small study sample, even though larger than most studies done on postprandial microvascular function, might have limited our ability in detecting every meal and sub-group differences. Furthermore, our findings cannot be generalized to women since this study was part of a larger trial that excluded women to minimize potential confounding effects of the female hormonal cycle on endothelial function [25].

In summary, this study reveals that a HSFAM and, to a lesser extent, a MMM impaired postprandial microvascular NIRS parameters in healthy males with hnTG while those with lnTG seemed unaffected by such high-fat challenges. This thus highlights that even normal triglyceridemia influences the susceptibility of otherwise healthy subjects to experience postprandial microvascular dysfunction. High-normal triglyceridemia might be an early sign of underlying metabolic dysfunction leading to blunted postprandial muscular insulin-dependant capillary recruitment which could, on a chronic basis, increase the risk of insulin resistance, hypertension and cardiovascular diseases.

Declaration of interests

The authors have no conflict of interests

Acknowledgements The authors wish to acknowledge the assistance of Julie Lalongé for coordinating study procedures.

REFERENCES

- [1] Lacroix S, DesRosiers C, Tardif JC, Nigam A. The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction. *Nutr Res Rev.* 2012;25:288-301.
- [2] Lacroix S, Rosiers CD, Gayda M, Tardif J, Nigam A. Baseline triglyceridemia influences postprandial endothelial response to a single mixed Mediterranean-type meal compared to a high-saturated fat meal. *Can J Cardiol.* 2012;28:Abstract 752.
- [3] Lauer T, Heiss C, Balzer J, Keymel S, Kelm M, Preik M, et al. Resting microvascular resistance and conduit artery tone: relevance to endothelium-dependent flow-mediated dilation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2008;15:677-82.
- [4] Muris DM, Houben AJ, Schram MT, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction: an emerging pathway in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013;14:29-38.
- [5] Avogaro A dKS, Federici M, Fadini GP. The Endothelium Abridges Insulin Resistance to Premature Aging. *J Am Heart Assoc.* 2013;2:e000262.
- [6] Shamim-Uzzaman QA, Pfenninger D, Kehrer C, Chakrabarti A, Kacirotti N, Rubenfire M, et al. Altered cutaneous microvascular responses to reactive hyperaemia in coronary artery disease: a comparative study with conduit vessel responses. *Clin Sci (Lond).* 2002;103:267-73.
- [7] Ahmadi N, Nabavi V, Nuguri V, Hajsadeghi F, Flores F, Akhtar M, et al. Low fingertip temperature rebound measured by digital thermal monitoring strongly correlates with the presence and extent of coronary artery disease diagnosed by 64-slice multi-detector computed tomography. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2009;25:725-38.

- [8] Gayda M, Juneau M, Tardif J, Lambert J, Nigam A. Effects of cardiovascular risk factors on macrovascular endothelial function and microvascular reactivity assessed with near-infrared spectroscopy in adults with different cardiovascular status. *Eur Heart J*. 2011;32:857.
- [9] Abozguia K, Phan TT, Shivu GN, Maher AR, Ahmed I, Wagenmakers A, et al. Reduced in vivo skeletal muscle oxygen consumption in patients with chronic heart failure--a study using Near Infrared Spectrophotometry (NIRS). *Eur J Heart Fail*. 2008;10:652-7.
- [10] Manetos C, Dimopoulos S, Tzanis G, Vakrou S, Tasoulis A, Kapelios C, et al. Skeletal muscle microcirculatory abnormalities are associated with exercise intolerance, ventilatory inefficiency, and impaired autonomic control in heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2011;30:1403-8.
- [11] Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, Buithieu J, Rose MS, Conradson H, et al. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation*. 2011;123:163-9.
- [12] Gerovasili V, Drakos S, Kravari M, Malliaras K, Karatzanos E, Dimopoulos S, et al. Physical exercise improves the peripheral microcirculation of patients with chronic heart failure. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2009;29:385-91.
- [13] Pasqualini L, Schillaci G, Innocente S, Pucci G, Coscia F, Siepi D, et al. Lifestyle intervention improves microvascular reactivity and increases serum adiponectin in overweight hypertensive patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20:87-92.
- [14] Moalla W, Elloumi M, Chamari K, Dupont G, Maingourd Y, Tabka Z, et al. Training effects on peripheral muscle oxygenation and performance in children with congenital heart diseases. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2012;37:621-30.

- [15] Shimabukuro M, Chinen I, Higa N, Takasu N, Yamakawa K, Ueda S. Effects of dietary composition on postprandial endothelial function and adiponectin concentrations in healthy humans: a crossover controlled study. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:923-8.
- [16] Armah CK, Jackson KG, Doman I, James L, Cheghani F, Minihaue AM. Fish oil fatty acids improve postprandial vascular reactivity in healthy men. *Clin Sci (Lond).* 2008;114:679-86.
- [17] Lacroix S, Gayda M, Gremeaux V, Juneau M, Tardif J-C, Nigam A. Reproducibility of near-infrared spectroscopy parameters measured during brachial artery occlusion and reactive hyperemia in healthy men. *Journal of Biomedical Optics.* 2012;17:077010.
- [18] van Beekvelt MC. Quantitative near-infrared spectroscopy in human skeletal muscle Methodological issues and clinical application. Nijmegen: Department of Physiology, University of Nijmegen; 2002.
- [19] West SG, Hecker KD, Mustad VA, Nicholson S, Schoemer SL, Wagner P, et al. Acute effects of monounsaturated fatty acids with and without omega-3 fatty acids on vascular reactivity in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2005;48:113-22.
- [20] Nioka S, Kime R, Sunar U, Im J, Izzetoglu M, Zhang J, et al. A novel method to measure regional muscle blood flow continuously using NIRS kinetics information. *Dyn Med.* 2006;5:5.
- [21] McCully KK, Halber C, Posner JD. Exercise-induced changes in oxygen saturation in the calf muscles of elderly subjects with peripheral vascular disease. *J Gerontol.* 1994;49:B128-34.
- [22] Liu Z, Liu J, Jahn LA, Fowler DE, Barrett EJ. Infusing lipid raises plasma free fatty acids and induces insulin resistance in muscle microvasculature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:3543-9.

- [23] van Genugten RE, Serne EH, Heymans MW, van Raalte DH, Diamant M. Postprandial microvascular function deteriorates in parallel with gradual worsening of insulin sensitivity and glucose tolerance in men with the metabolic syndrome or type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2013;56:583-7.
- [24] Eringa EC, Stehouwer CD, Walburg K, Clark AD, van Nieuw Amerongen GP, Westerhof N, et al. Physiological concentrations of insulin induce endothelin-dependent vasoconstriction of skeletal muscle resistance arteries in the presence of tumor necrosis factor- α dependence on c-Jun N-terminal kinase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:274-80.
- [25] Harris RA, Tedjasaputra V, Zhao J, Richardson RS. Premenopausal women exhibit an inherent protection of endothelial function following a high-fat meal. *Reprod Sci*. 2012;19:221-8.

TABLES

Table 1. Baseline demographic and anthropometric data of study participants

	hnTG (n=14)	lnTG (n=14)
Age (years)	36 ± 8.2	32 ± 8.1
Weight (kg)	80.7 ± 11.5	76.7 ± 7.7
BMI (kg/m ²)	26.3 ± 3.5	24.2 ± 2.3
Body fat (%)	20.8 ± 5.2 *	16.0 ± 6.5
Trunk fat mass (%)	23.0 ± 6.0 *	17.7 ± 7.3
SBP (mmHg)	120 ± 6.8	120 ± 7.5
DBP (mmHg)	73.9 ± 8.5	72.8 ± 7.2
HOMA-IR	1.77 ± 0.90 *	1.06 ± 0.76
Triglycerides (mmol/L)	1.36 ± 0.65 *	0.69 ± 0.21

* p-value < 0.05 vs. lnTG

Table 2. Fasting and postprandial microvascular parameters

	hnTG			lnTG		
	Baseline	HSFAM	MMM	Baseline	HSFAM	MMM
mVO ₂ (mlO ₂ /min/100g)	0.057 ± 0.012	0.06 ± 0.014	0.056 ± 0.008	0.062 ± 0.008	0.065 ± 0.012*	0.063 ± 0.009
½TO ₂ Hb (s)	16.7 ± 4.6	21.1 ± 6.6**	19.1 ± 4.7*	21.4 ± 9.5	25.1 ± 12.8	20.9 ± 11.2
TO ₂ Hb (s)	39.7 ± 8.6	49.4 ± 9.7**	48.3 ± 14.0*	44.7 ± 17.6	51.3 ± 19.1	49.6 ± 21.6
TtHb (s)	19.5 ± 3.7	25.6 ± 5.9**, †	22.1 ± 5.2	27.2 ± 13.3	29.8 ± 10.6	26.1 ± 12.2
Hmax O ₂ Hb (uM)	26.6 ± 4.2	27.0 ± 4.5	26.4 ± 3.4	29.0 ± 2.6	28.7 ± 5.0	28.7 ± 4.3
Hmax tHb (uM)	9.93 ± 1.80	9.71 ± 1.9	9.71 ± 2.0	10.6 ± 1.3	10.7 ± 2.6	10.1 ± 2.5
Increase rate to O ₂ Hb (uM/s)	0.70 ± 0.17	0.56 ± 0.13*	0.58 ± 0.15*	0.75 ± 0.27	0.65 ± 0.29	0.66 ± 0.24
Increase rate to tHb (uM/s)	0.54 ± 0.13	0.40 ± 0.12**, †	0.46 ± 0.12	0.47 ± 0.17	0.41 ± 0.17	0.46 ± 0.24

* p-value < 0.05 ** p-value ≤ 0.01 vs. baseline

† p-value = 0.1 vs. MMM

Supplementary materials

Supplementary table 1. Nutritional composition of both test meals

	HSFAMMMM	
Total calories (kcal)	858	885
Total lipids (g)	56.9	51.3
Total calories from fat (%)	58	51
SFA (g)	14.8	7.87
MUFA (g)	22.6	25.9
Total PUFA (g)	11.15	8.59
Omega-3 PUFA (g)	-	2.29
DHA:EPA	-	2:1
Carbohydrates (g)	68.7	63.8
Fibers (g)	6.56	13.0
Proteins (g)	24.2	37.8
Sodium (mg)	1806	1284
Vitamin C (mg)	4.77	87.9

8. Discussion générale

Tel que mentionné ultérieurement, il est impératif de mieux comprendre l'impact de la composition nutritionnelle de différents repas sur les processus endothéliaux et métaboliques en période postprandiale, période déterminante de l'athérogénèse (244, 256). L'impact endothélial d'un repas nord-américain typiquement riche en SFA et en sucres simples, bien que souvent étudié, est encore controversé d'autant plus que le rôle que pourrait jouer le stress oxydatif d'origine nutritionnelle est encore méconnu. Nous avons donc d'abord entrepris de recenser les essais cliniques faits précédemment sur le sujet et ayant évalué des marqueurs de stress oxydatif avec pour objectifs d'identifier les facteurs pouvant expliquer de telles controverses et faire ressortir ce qui devra être clarifié dans des études éventuelles (article de revue de littérature). Suite à ce travail, il apparaît que de tels repas riches en SFA et/ou en sucres simples engendrent une réponse hypertriglycéridémique et/ou hyperglycémique qui altère(nt) la fonction endothéliale postprandiale et que le lien entre ces événements métaboliques et vasculaires est probablement l'augmentation de processus oxydatifs (et inflammatoires). Un point important qui est ressorti de cette revue de la littérature est que le choix de biomarqueurs de stress oxydatif (et inflammatoire) pourrait être en partie responsable des controverses entourant son implication dans la réponse endothéliale à différents repas. En effet, la rapidité avec laquelle les biomarqueurs utilisés peuvent être influencés en période postprandiale et la spécificité avec laquelle ces marqueurs reflètent des événements endothéliaux sont variables. D'autre part, ce recensement nous suggère que l'ajout d'acides gras insaturés et d'agents antioxydants à des repas riches en SFA ou en glucides en minimiserait les impacts endothéliaux délétères.

Fort de ces connaissances, nous avons par la suite procédé à l'essai clinique randomisé, chassé-croisé « *Fat and endothelial function trial (FATT)* » qui avait pour objectif principal d'évaluer l'impact endothélial d'un seul repas méditerranéen complet (MMM). Ceci n'ayant encore jamais été étudié, nous envisageons qu'un tel repas ait un effet endothélial non-délétère de par sa teneur importante en acides gras insaturés, sa charge glycémique plus faible (i.e. fibres) et sa composition en antioxydants (i.e. polyphénols de l'EVOO et des légumes). Cet essai clinique est donc à notre connaissance le premier à évaluer l'impact

postprandial d'un repas méditerranéen complet plutôt que d'évaluer l'impact de grandes quantités d'une composante méditerranéenne unique telle l'huile d'olive ou de poisson à l'intérieur de boissons frappées (*milkshake*). Notre étude adopte donc une approche holistique qui est maintenant préconisée en nutrition et considère l'ensemble des éléments constituant chaque aliment méditerranéen (i.e. compositions en acides gras, charge glycémique, fibres, antioxydants, etc.) ainsi que la synergie possible entre ceux-ci. En plus des mesures typiques de la glycémie, de l'insulinémie et le profil lipidique, nous avons caractérisé la composition des triglycérides plasmatiques puisque nous soupçonnions que celle-ci avait une influence plus importante sur la fonction endothéliale que la simple concentration de triglycérides circulants. Nous avons aussi évalué la réponse microvasculaire à ce repas à l'étude puisque, comme détaillé plus tôt, ce réseau vasculaire détermine une partie de la vasodilatation artérielle hyperhémique et qu'il pourrait répondre différemment au repas à l'étude. À titre comparatif et pour dissiper les controverses à son sujet, nous avons aussi évalué l'ensemble de ces paramètres suite à l'ingestion d'un repas isocalorique provenant de la restauration rapide typiquement nord-américaine et qui était riche en SFA (HSFAM).

Deux sous-groupes de sujets ont semblé se dégager de l'analyse des résultats endothéliaux suivant l'ingestion des deux repas à l'étude. En effet, bien que tous les participants étaient sains et sans facteurs de risque cardiovasculaire, ceux ayant une triglycéridémie à jeun plus élevée (quoique dans les limites de la normale) semblaient avoir des réponses endothéliales différentes de ceux ayant une triglycéridémie plus faible. Afin de comparer ces deux types de répondeurs, nous avons divisé la cohorte complète en deux sous-groupes selon la médiane des triglycérides à jeun. Les sujets ayant une triglycéridémie à jeun au-dessus de la médiane ont été identifiés comme ayant des niveaux élevés, mais dans les normes (*high-normal triglycerides*, hnTG) alors que ceux étant sous la médiane ont été identifiés comme ayant des niveaux faibles, mais dans les normes (*low-normal triglycerides*, lnTG).

Nos observations présentées sous forme d'article (étude 1) démontrent donc pour la première fois qu'un repas MMM complet n'altère pas la fonction endothéliale postprandiale, et ce, indépendamment de la triglycéridémie à jeun de sujets sains. De façon toute aussi novatrice, nous observons qu'un repas isocalorique au repas méditerranéen, mais de composition nord-américaine a un impact délétère sur la fonction endothéliale seulement

chez les sujets hnTG. Ceci est d'importance puisqu'avant nos observations, c'était majoritairement les individus à haut risque cardiovasculaire qui étaient considérés comme susceptibles de connaître des dysfonctions endothéliales postprandiales suivant l'ingestion de quantités importantes de SFA (voir l'article de revue de littérature) (257). Cet essai clinique démontre donc qu'un sous-groupe de sujets sains à faible risque de maladies cardiovasculaires, mais ayant une triglycéridémie marginalement élevée et un profil métabolique marginalement perturbé (discuté ci-bas) est à plus haut risque de dysfonctions endothéliales suivant un repas de composition nord-américaine. Un tel repas mettrait possiblement les mécanismes homéostatiques sous plus haute pression que le repas méditerranéen.

8.1.1 La relation entre la lipémie et la fonction endothéliale

Pour expliquer ces observations et pour distinguer les deux sous-groupes de répondeurs, nous avons d'abord évalué l'effet hyperlipémique (notamment hypertriglycéridémique) des deux repas à l'étude. À première vue, la teneur élevée en SFA du HSFAM et la composition en fibres et en PUFA oméga-3 du repas MMM laissaient présager des effets hyperlipémiques différents. Cependant, seuls les sujets InTG ont connu des périodes hypertriglycéridémiques d'ampleurs différentes selon la nature des repas. Des réponses hypertriglycéridémiques différentes entre les deux repas ne peuvent donc pas expliquer l'impact endothélial différent des deux repas à l'étude chez les sujets hnTG. Ceci rejoint donc, chez les sujets hnTG du moins, certaines théories voulant que l'amplitude de l'hypertriglycéridémie postprandiale soit dictée par la quantité d'acides gras consommés et non par leur qualité (composition) (258, 259).

Pour approfondir notre analyse de la réponse triglycéridémique aux deux repas, nous avons aussi calculé la charge triglycéridémique postprandiale ajustée pour la triglycéridémie à jeun (AUC_{TG} incrémentale, $iAUC_{TG}$). Ceci nous a permis de conclure que les sujets hnTG étaient sous une charge triglycéridémique postprandiale plus importante que les sujets InTG. Fait intéressant, il a été rapporté que des niveaux d'ApoB élevés étaient associés à une clairance postprandiale de triglycérides ralentie chez des femmes post-ménopausées en surpoids/obésité (260). De plus, dans cette même étude, une association négative a été démontrée entre les niveaux d'ApoB et la fonction *ex vivo* du tissu adipeux sous-cutané (i.e.

efficacité d'hydrolyse et de captation de lipides) utilisée comme indice *in situ* de l'activité LPL. Malgré le fait que nos sujets étaient des hommes sains et que nous n'avons pas évalué les niveaux d'ApoB, nous pouvons tout de même retrouver dans les conclusions de Bissonnette et al. une piste d'explication plausible à nos observations. Par exemple, la similitude entre la triglycérémie à jeun des sujets hnTG et celle des femmes ayant des niveaux d'ApoB élevés (i.e. 1.9 ± 0.3 mmol/L) peut laisser croire que les sujets hnTG auraient, eux-aussi, des niveaux d'ApoB supérieurs à ceux des sujets lnTG. Il se pourrait donc qu'une atteinte des fonctions du tissu adipeux sous-cutané chez les sujets hnTG soit responsable d'une clairance lipidique ralentie, ce qui expliquerait la charge triglycérémique postprandiale augmentée. L'exposition aux triglycérides postprandiaux pourrait donc n'avoir été suffisamment importante que chez les sujets hnTG pour qu'il y ait eu altération des processus endothéliaux. De par leur profil métabolique marginal (i.e. profil lipidique plus perturbé ainsi que des pourcentages de tissu adipeux abdominal et des HOMA-IR plus élevés que les lnTG, mais à l'intérieur des valeurs normales) et leur clairance lipidique ralentie, les sujets hnTG pourraient donc être « répondeurs aux lipides ». Un groupe d'individus défini comme tel a d'ailleurs été identifié précédemment pour présenter une hypertriglycérémie postprandiale plus élevée que celle des « non-répondeurs » suivant un repas similaire à notre HSFAM. Ces « répondeurs » avaient d'ailleurs une triglycérémie à jeun (1.09 ± 0.09 mmol/L) et un HOMA-IR (1.7 ± 0.6) similaires à ceux de nos sujets hnTG (261, 262).

La relation entre cette réponse hypertriglycérémique et la réponse endothéliale a ensuite été analysée. Le fait que nous ayons obtenu une association significative entre la charge triglycérémique et la FMD chez les sujets hnTG et que le sens de cette association soit dépendante de la nature du repas suggère que la composition des triglycérides circulants suivant les deux repas était différente et que cette composition avait une influence sur la fonction endothéliale. La caractérisation des acides gras plasmatiques a confirmé cette hypothèse en démontrant un enrichissement postprandial en acide stéarique (18 :0), mais sans augmentation significative des SFA totaux, suivant le HSFAM et en PUFA oméga-3 d'origine animale suivant le MMM chez les hnTG tandis que seules les proportions d'acides oléique (18 :1 n9) et linoléique (18 :2 n6) étaient influencées par la nature du repas chez les lnTG (étude 1). En plus d'avoir une charge triglycérémique postprandiale plus importante, la prise du repas MMM par les sujets hnTG a engendré un enrichissement plasmatique en PUFA oméga-3. La présence de cette classe d'acides gras est reconnue 1) pour engendrer

la production d'eicosanoïdes de potentiel inflammatoire moindre que ceux dérivant des PUFA oméga-6, 2) pour activer la eNOS et inactiver la NADPH oxydase vasculaire et 3) pour faciliter la clairance des lipoprotéines les transportant (55, 263, 264). Cette dernière caractéristique expliquerait la tendance vers une $iAUC_{TG}$ plus faible suivant le MMM chez les sujets hnTG (p-value = 0.07 vs HSFAM). La prolongation de la période postprandiale chez les hnTG pourrait donc avoir fait en sorte d'augmenter le temps en circulation des acides gras exogènes et d'en augmenter l'impact endothélial (qu'il soit néfaste, neutre ou même bénéfique) comparativement aux sujets lnTG.

8.1.2 Rôle de l'inflammation et du stress oxydatif

En plus d'influencer le métabolisme postprandial des lipoprotéines, la composition en triglycérides peut influencer le potentiel inflammatoire et oxydatif, le potentiel à altérer les processus endothéliaux et, ultimement, l'athérogénicité de ces lipoprotéines. Pour évaluer l'impact des deux repas à l'étude sur les niveaux d'inflammation postprandiaux, nous avons quantifié la hs-CRP et l'IL-6. L'absence de variation postprandiale de la hs-CRP était attendue puisque cette cytokine varie très rarement suivant l'ingestion d'un seul repas chez des sujets sains ayant des niveaux d'inflammation normaux (265). L'évaluation de l'IL-6 avait donc pour objectif d'améliorer notre évaluation de l'inflammation postprandiale puisque cette cytokine agit en amont de la hs-CRP et pourrait donc être plus sensible aux événements aigus. De plus, la sécrétion d'IL-6 par les lymphocytes et les macrophages des parois vasculaires nous laissait présager d'une plus grande spécificité aux atteintes endothéliales postprandiales. La quantification de l'IL-6, qui a été conduite chez seulement six sujets en guise de dosage-pilote, n'a pu démontrer de variations postprandiales significatives ce qui semble contraire à certaines publications préalables (266-268). Cependant, une étude qui est apparue suite à la conception du présent essai clinique postule que les augmentations postprandiales d'IL-6 qui ont été rapportées par ces groupes ne pourraient être que le reflet de l'inflammation locale engendrée par l'insertion d'une canule veineuse, méthodologie qui n'a pas été utilisée dans la présente étude (265).

Nous avons aussi proposé d'évaluer le stress oxydatif puisqu'il semble moduler la fonction endothéliale postprandiale (article de revue de littérature) et être impliqué dans les processus inflammatoires (78). Le choix de la MPO comme marqueur oxydatif est dû à son

association aux macrophages des parois endothéliales, à son rôle dans la production de peroxy-nitrite et à son potentiel de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires tels l'IL-1, l'IL-8 et le TNF α (269). La quantification de la MPO chez les mêmes six individus utilisés pour le dosage-pilote de l'IL-6 n'a pu démontrer de variations postprandiales significatives de la concentration de cette enzyme, ce qui semble aussi contraire aux résultats rapportés par le seul groupe qui démontra une activation de la MPO suivant un HSFAM (270).

Cette absence de résultats significatifs pourrait être due à la puissance statistique insuffisante des analyses d'IL-6 et de MPO ou au fait que les participants évalués avaient des niveaux de base de ces marqueurs trop faibles (i.e. hs-CRP à jeun sous le seuil de détection pour certains sujets). En effet, des augmentations postprandiales significatives de marqueurs d'inflammation et d'oxydation sont souvent observables seulement chez des sujets avec facteurs de risque cardiovasculaire (271). L'absence de variation de ces marqueurs ne discrédite pas pour autant l'inflammation et le stress oxydatif comme potentiellement responsables de la détérioration de la fonction endothéliale observée suite à la consommation du HSFAM chez les hnTG. On ne peut en effet exclure la possibilité que les méthodes utilisées ne soient assez sensibles ou spécifiques pour permettre une mesure adéquate de l'inflammation et du stress oxydatif au niveau endothélial (tel que mentionné dans l'article de revue de littérature). Il est aussi possible que des événements pro-inflammatoires/oxydatifs plus précoces que ce qui aurait pu être mesuré par les biomarqueurs sélectionnés aient été impliqués dans les événements endothéliaux observés. Entre autres, Erridge et al. ont démontré qu'un HSFAM engendrait une augmentation de lipopolysaccharides, un antigène bactérien pro-inflammatoire et athérogène, chez des sujets sains (272). Cet antigène, caractéristique de l'endotoxémie, est en effet reconnu pour induire la libération de TNF α et pour altérer l'homéostasie vasculaire et ce, proportionnellement à l'HOMA-IR, à l'IMC et à la charge lipidique postprandiale des sujets étudiés (271, 273). Il est donc probable que les profils anthropométriques et métaboliques marginaux et la charge lipidique postprandiale plus importante des hnTG puissent avoir favorisé de tels événements suivant la consommation du HSFAM et expliquer la dysfonction endothéliale observée exclusivement dans ce sous-groupe. Pour sa part, la teneur importante en PUFA oméga-3, mais aussi en antioxydants du MMM pourrait en avoir amoindri le potentiel endotoxémique et inflammatoire. En effet, en plus des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes des PUFA oméga-3 discutées plus tôt, le contenu en polyphénols de l'EVOO et des fruits et légumes contribue à diminuer l'inflammation et à

augmenter les capacités antioxydantes sanguines dans les heures suivant leur consommation (274, 275). Ces propriétés auraient donc contribué à diminuer l'inflammation et le stress oxydatif d'origine métabolique et à conférer une neutralité endothéliale au MMM.

8.1.3 La fonction microvasculaire postprandiale

Nous avons aussi entrepris de suivre l'évolution de la fonction microvasculaire par NIRS suivant la prise des deux repas à l'étude. Avant de procéder à l'évaluation postprandiale, nous avons d'abord vérifié la reproductibilité intra-sujet et inter-observateurs de certains paramètres NIRS que nous avons mis au point. Tel que démontré dans l'étude 2, la reproductibilité intra-sujet d'une majorité de paramètres NIRS s'est avérée bonne ($0.61 \leq \text{ICC} \leq 0.80$) tandis que la reproductibilité inter-observateurs s'est avérée excellente ($\text{ICC} \geq 0.81$) pour tous les paramètres NIRS. En plus d'établir la validité de l'évaluation NIRS, cette analyse nous a permis d'obtenir les seuils au-delà desquels les paramètres NIRS devront varier pour être considérés comme cliniquement significatifs (i.e. reproductibilité absolue). Cette sous-étude nous permet donc de conclure que la méthodologie NIRS est fiable et qu'elle peut être utilisée lors de mesures répétées ayant pour but de comparer la réponse microvasculaire à des interventions (repas ou programmes de prise en charge d'habitudes de vie par exemple) et que l'analyse des paramètres NIRS peut être effectuée par deux observateurs différents sans que cela ait d'impacts sur la qualité des résultats obtenues.

L'utilisation de cette méthodologie dans l'évaluation de la fonction microvasculaire en période postprandiale est à notre connaissance unique et novatrice. Ces mesures nous ont permis de conclure que la fonction microvasculaire est modifiée dans les heures suivant l'ingestion des repas à l'étude et que ces variations étaient influencées par la triglycéridémie à jeun des sujets. En effet, nous avons observé que la période de réoxygénation ($\frac{1}{2}\text{TO}_2\text{Hb}$, TO_2Hb et vitesse d'augmentation maximale d' O_2Hb) post-ischémique des capillaires musculaires des sujets hnTG semble être prolongée par la consommation des repas à l'étude. De plus, seul le HSFAM semble affecter le retour aux valeurs de perfusion post-ischémique maximales (TtHb et vitesse d'augmentation maximale de tHb) chez les sujets hnTG (étude 3). Il est à noter que ces paramètres varient au-delà des seuils de signification clinique seulement suivant la prise du HSFAM. Du côté des sujets InTG, ces paramètres NIRS étaient inchangés, quatre heures après la consommation d'un des deux repas à l'étude.

La réoxygénation, la reperfusion capillaire et le retour aux valeurs de bases d'O₂Hb et de tHb suivant une période d'ischémie sont dépendantes du recrutement capillaire fonctionnel qui s'opère via une vasodilatation capillaire musculaire majoritairement dépendante de l'insuline. Cette vasodilatation permet l'augmentation du débit/volume sanguin au niveau capillaire et ainsi l'hyperhémie post-ischémique. Ainsi, et comme vu précédemment, le bon fonctionnement de ces processus microvasculaires qui permettent l'hyperhémie réactive est donc primordial à la vasodilatation artérielle induite par le débit sanguin (FMD).

La prolongation du temps requis pour accomplir la réoxygénation et la reperfusion musculaire post-ischémique maximale que nous observons suivant le HSFAM chez les sujets hnTG suggèrent une altération du recrutement capillaire fonctionnel. La charge triglycéridémique postprandiale plus importante chez les hnTG et la possibilité que celle-ci ait été accompagnée de processus inflammatoires et oxydatifs pourrait avoir induit une résistance locale et transitoire à l'action vasodilatatrice de l'insuline (44, 276). Cette résistance aurait été plus importante suivant le contact avec les triglycérides circulants suite au HSFAM. De telles altérations ont déjà été observées durant une hyperlipémie induite par l'infusion de lipides chez des sujets sains (277, 278) et suivant la consommation d'un repas riche en acide gras chez des individus atteints de MetS ou de DTII comparativement à des sujets sains (279). Il est intéressant de noter que les individus atteints de MetS ou de DTII avaient des triglycéidémies à jeun (1.6 mmol/L [1.4-2.4] et 1.8 mmol/L [1.1-2.3] respectivement) similaires à celle des sujets hnTG et présentaient des charges triglycéridémiques postprandiales plus importantes que celles de sujets sains aux triglycéidémies comparables à celles des sujets InTG. Nous proposons donc que les altérations des processus microvasculaires que nous avons notées puissent être responsables, du moins en partie, de l'altération de la FMD observée suite au HSFAM chez les sujets hnTG. Ultiment, des atteintes répétées du recrutement capillaire affecteront la captation musculaire de nutriments et contribueront au développement de l'hyperglycémie/hyperlipémie, de l'IR et au DTII (276, 278, 280).

8.1.4 Influence des habitudes alimentaires et de la forme physique

L'impact des habitudes alimentaires et du niveau de forme physique sur les réponses endothéliales aux repas à l'étude a aussi été exploré puisque ces éléments peuvent influencer les triglycéridémies à jeun et postprandiales et les défenses anti-inflammatoires et antioxydantes. Par exemple, une consommation habituelle de PUFA oméga-3 qui permettrait la réduction du ratio PUFA oméga-6 : oméga-3 amoindrirait les altérations endothéliales induites par une épreuve nutritionnelle riche en SFA. Ceci s'expliquerait par le fait qu'une plus grande consommation de PUFA oméga-3 activerait la LPL limitant ainsi la réponse hypertriglycéridémique postprandiale, améliorerait la fluidité des membranes cellulaires et diminuerait l'impact pro-inflammatoire du $\text{TNF}\alpha$ (263, 281). Une consommation plus importante de PUFA oméga-3 et/ou l'adhésion à une diète se rapprochant de la diète méditerranéenne par les sujets InTG pourraient donc avoir contribué à amoindrir les épisodes d'hypertriglycéridémie et les altérations endothéliales suivant le HSFAM et ainsi contribuer à expliquer nos observations.

L'analyse des questionnaires alimentaires des participants ne nous a cependant pas permis d'identifier de différences d'adhésion à la diète méditerranéenne ou de consommation d'acide gras entre les sous-groupes. Seule la consommation habituelle de fruits et de légumes était différente et plus élevée pour les sujets InTG (étude 1). Une charge antioxydante supérieure provenant de la consommation augmentée de fruits et légumes pourrait avoir contribué à la préservation de la fonction endothéliale suite au HSFAM chez les sujets InTG. Seul le ratio PUFA oméga-6 : oméga-3 était négativement associé à la fonction endothéliale suivant le HSFAM chez les hnTG ($\rho = -0.59$, $p\text{-value} < 0.05$). Le ratio PUFA oméga-6 : oméga-3 de la diète habituelle semble donc être un déterminant de la réponse endothéliale à un HSFAM mais sans cependant en influencer l'effet hypertriglycéridémique. Il est probable que cet effet provienne de la modulation des niveaux d'eicosanoides anti/pro-inflammatoires et vasoactifs découlant de ces acides gras (263).

Le niveau de forme physique des participants a aussi été évalué à l'aide du questionnaire d'activité physique de Huet et al. qui a été validé précédemment par rapport à la mesure directe du VO_2max ($\text{ICC} = 0.988$ et $r = 0.84$, VO_2max estimé vs mesuré) (253). Nous

n'avons pu observer de différences entre les VO_2 max estimés entre les deux sous-groupes et n'avons pu identifier d'influence de la forme physique sur la réponse endothéliale et métabolique aux repas. Ceci va à l'encontre de ce qui était attendu puisqu'un bon niveau de forme physique et la pratique régulière d'activités physiques améliorent la fonction vasculaire et les capacités antioxydantes (282, 283). La forme physique trop similaire et au-dessus des normes pour l'âge des participants à l'étude a probablement contribué à masquer l'effet de ce paramètre sur les processus métaboliques et endothéliaux postprandiaux.

8.1.5 Résumé schématisé des observations

Le schéma de la page suivante résume les observations effectuées suite à la consommation du HSFAM chez les sujets hnTG et qui ont été détaillées précédemment. Le schéma regroupe aussi les hypothèses que nous avons émises pour expliquer nos observations et qui seront utilisées comme base de réflexion pour des études futures.

Chez les individus hnTG, le MMM n'a pas causé de dysfonctions vasculaires puisqu'il n'aurait pas déclenché la cascade d'évènements représentée ici-bas. En effet, l'enrichissement plasmatique en PUFA oméga-3 associé au MMM et sa haute teneur en composés antioxydants lui confèrent un potentiel inflammatoire, oxydatif et endotoxémique moindre que le HSFAM.

Pour ce qui est des sujets lnTG, leur meilleur profil métabolique et leur consommation de fruits et de légumes plus importante leur ont assuré une meilleure clairance lipidique postprandiale et une meilleure défense antioxydante suivant les deux repas à l'étude ce qui a empêché le déclenchement de la cascade ci-dessous,

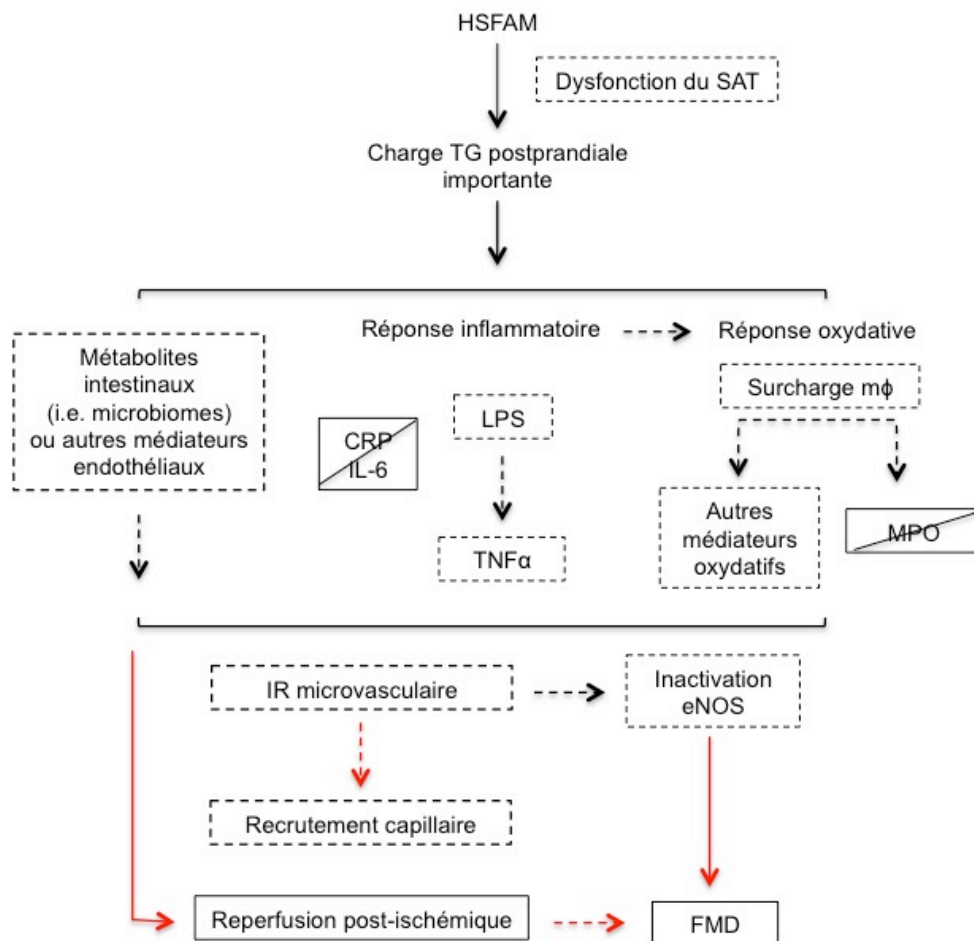


Figure 17. Schéma explicatif résumant les observations notées suite à la prise du repas riche en acides gras saturés chez les sujets ayant des triglycéridémies à jeun élevées, mais normales.

Légende : CRP: Protéine C-réactive, eNOS: Syntase endothéliale de monoxyde d'azote, FMD: Vasodilatation induite par le débit sanguin, HSFAM : Repas riche en acides gras saturés, IL-6: Interleukine-6, IR: Résistance à l'insuline, LPS: Lipopolysaccharides, mφ: mitochondrie, MPO: Myéloperoxydase, SAT : Tissu adipeux sous-cutané, TG: Triglycérides et TNFα: Tumor-necrosis factor alpha

Il est à noter que l'utilisation des lignes/encadrés plein(e)s a été réservée pour les éléments qui ont été mesurés dans le présent projet tandis que les lignes/encadrés pointillé(e)s représentent des éléments hypothétiques. Les lignes rouges dénotent un impact négatif.

8.1.6 Limites

Cet essai clinique comporte plusieurs forces et aspects novateurs, mais souffre aussi de quelques limites. Entre autres, le fait que nous ayons recruté exclusivement des hommes âgés de moins de 50 ans limite l'application des conclusions obtenues à cette population seulement. L'absence de standardisation du dernier repas consommé la veille de chacune des visites de l'étude pourrait avoir influencé la réponse endothéliale aux repas étudiés. Il y aurait en effet une contribution des triglycérides hépatiques dans la réponse hypertriglycéridémique postprandiale et il pourrait donc y avoir eu influence de la nature des repas consommés antérieurement dans les réponses observées (284). Cependant, la caractérisation des acides gras plasmatiques et la prise en compte des habitudes alimentaires des participants limitent l'impact de l'omission d'un tel repas standardisé. De plus et comme discuté précédemment, le choix de biomarqueurs inflammatoires et oxydatifs plus sensibles et spécifiques aux processus endothéliaux aurait possiblement amélioré l'évaluation de leur implication dans les processus observés. Aussi, le questionnaire de fréquence alimentaire assez bref et visant majoritairement à évaluer la qualité de consommation lipidique des sujets pourrait avoir sous-estimé l'impact d'autres aspects de l'alimentation habituelle. Un questionnaire plus exhaustif aurait possiblement pu mettre en évidence d'autres facteurs alimentaires influençant la réponse aux repas. Dans le même ordre d'idée, la mesure directe des niveaux de forme physique des participants à l'aide d'une épreuve d'effort maximal avec mesure des échanges gazeux nous aurait permis l'obtention de plusieurs paramètres cardiométaboliques qui auraient pu ajouter à la comparaison des sous-groupes. Cependant, l'estimation du VO_2max à l'aide du questionnaire d'activité physique choisi offrait une estimation fiable.

9. Conclusions et perspectives

En conclusion, le présent projet de recherche nous a permis d'établir 1) la neutralité d'un repas méditerranéen sur la fonction endothéliale, 2) que seuls des individus sains ayant une triglycéridémie à jeun élevée, mais normale (hnTG), présentaient des altérations endothéliales suivant la consommation d'un repas riche en SFA, 3) que le profil métabolique marginal de ces individus pourrait avoir ralenti le métabolisme postprandial des triglycérides et ainsi augmenté l'importance de la composition des acides gras consommés et en circulation et 4) que la fonction microvasculaire était altérée par la consommation des repas à l'étude seulement chez les individus hnTG. Globalement, ceci nous révèle que des individus à faible risque cardiovasculaire, mais au profil métabolique marginal seraient plus sensibles à la composition nutritionnelle des repas ingérés et que ceci serait probablement dû à une capacité de clairance postprandiale d'acides gras diminuée.

À la lumière de ces observations, nous pouvons affirmer que la consommation de repas de composition typiquement méditerranéenne est bénéfique pour le maintien d'une santé vasculaire qui contribue à prévenir le développement de l'athérosclérose et ultimement à diminuer le risque d'évènements cardiovasculaires. Ces observations contribuent à sensibiliser à l'importance de la composition de chaque repas et ce, même pour des individus en apparence sains puisque des dysfonctions métaboliques postprandiales peuvent être insoupçonnées.

Les différences inter-individuelles de réponses postprandiales que nous avons notées soulignent l'importance d'étudier la période postprandiale pour mettre en évidence des disparités au niveau des processus de régulation de l'homéostasie (métabolique et vasculaire) qui ne seraient autrement observables à l'état de jeûne (stabilité homéostatique). De plus, la présence de ces différences chez des individus aux profils assez homogènes laissent présager des différences encore plus importantes chez des individus aux profils cardiométaboliques variés, comme on le retrouve dans l'ensemble de la population.

Afin de confirmer nos observations et d'approfondir les hypothèses émises lors de ce projet de recherche, il serait intéressant qu'une étude subséquente cible dès le départ un groupe d'hommes sains, mais à la triglycéridémie et au tour de taille à la limite des valeurs

normales. Les niveaux d'ApoB totaux et la fonction du tissu adipeux sous-cutané périphérique pourraient être mesurés chez ceux-ci afin d'évaluer le rôle joué par l'efficacité de clairance des lipoprotéines riches en triglycérides dans les différences inter-individuelles de réponses endothéliales postprandiales. La quantification de marqueurs d'inflammation et de stress oxydatif dans la totalité de la population étudiée serait aussi souhaitable. Des analyses de métabolomiques et de protéomiques permettraient aussi d'identifier des facteurs permettant d'expliquer et même de prédire la réponse endothéliale postprandiale à différents repas. De tels facteurs pourraient ensuite servir de biomarqueurs cliniques plus spécifiques que ceux utilisés présentement. Finalement, l'évaluation de la composition et de la fonction du microbiome permettrait d'explorer la possibilité qu'une réponse endotoxémique soit impliquée dans nos observations.

Ultimement, un suivi à long terme de participants issus de groupe de répondeurs endothéliaux distinct serait aussi d'intérêt afin de déterminer l'association entre cette réponse et le statut cardiométabolique et le développement de maladies cardiovasculaires futures. Les connaissances issues de telles études serviraient à mieux distinguer le profil de répondeur endothélial à différentes composantes alimentaires et contribueraient à personnaliser les recommandations nutritionnelles, voie d'avenir de la médecine préventive.

Références

1. WHO. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva: World Health Organization press 2009.
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2013 Jan 1;127(1):143-52.
3. Mortality, summary list of causes 2008: Statistics Canada 2011.
4. Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J Am Coll Cardiol*. 1999 Sep;34(3):631-8.
5. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III27-32.
6. Stocker R, Keaney JF, Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2004 Oct;84(4):1381-478.
7. Ghesquiere SAI. Anatomy overview of a human artery. Wikipedia: University of Maastricht; 2005.
8. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.
9. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987 Dec;84(24):9265-9.
10. Hall WL. Dietary saturated and unsaturated fats as determinants of blood pressure and vascular function. *Nutr Res Rev*. 2009 Jun;22(1):18-38.
11. Ignarro LJ, Cirino G, Casini A, Napoli C. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999 Dec;34(6):879-86.
12. Tousoulis D, Papageorgiou N, Antoniadou C, Giolisi A, Bouras G, Gounari P, et al. Acute effects of different types of oil consumption on endothelial function, oxidative stress status and vascular inflammation in healthy volunteers. *Br J Nutr*. 2010 Jan;103(1):43-9.
13. Thorin E, Webb DJ. Endothelium-derived endothelin-1. *Pflugers Arch*. 2010 May;459(6):951-8.

14. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986 Oct 23;315(17):1046-51.
15. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995 Nov 1;26(5):1235-41.
16. Schnabel RB, Schulz A, Wild PS, Sinning CR, Wilde S, Eleftheriadis M, et al. Noninvasive vascular function measurement in the community: cross-sectional relations and comparison of methods. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2011 Jul;4(4):371-80.
17. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, et al. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*. 2012 Aug 7;126(6):753-67.
18. Thorin E, Thorin-Trescases N. Vascular endothelial ageing, heartbeat after heartbeat. *Cardiovasc Res*. 2009 Oct 1;84(1):24-32.
19. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol*. 1994 Nov 15;24(6):1468-74.
20. Al Suwaidi J, Higano ST, Holmes DR, Jr., Lennon R, Lerman A. Obesity is independently associated with coronary endothelial dysfunction in patients with normal or mildly diseased coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*. 2001 May;37(6):1523-8.
21. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlaeger H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation*. 1991 Feb;83(2):391-401.
22. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Aug;15(8):1983-92.
23. Shechter M, Issachar A, Marai I, Koren-Morag N, Freinark D, Shahar Y, et al. Long-term association of brachial artery flow-mediated vasodilation and cardiovascular events in middle-aged subjects with no apparent heart disease. *Int J Cardiol*. 2009 May 1;134(1):52-8.
24. Shechter M, Marai I, Marai S, Sherer Y, Sela BA, Feinberg MS, et al. The association of endothelial dysfunction and cardiovascular events in healthy subjects and patients with cardiovascular disease. *Isr Med Assoc J*. 2007 Apr;9(4):271-6.
25. Versari D, Daghini E, Virdis A, Ghiadoni L, Taddei S. Endothelial dysfunction as a target for prevention of cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 2009 Nov;32 Suppl 2:S314-21.

26. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000 Apr 25;101(16):1899-906.
27. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Feb 1;23(2):168-75.
28. Wallace JP, Johnson B, Padilla J, Mather K. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *Int J Clin Pract*. 2010 Feb;64(3):389-403.
29. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. 2007 Jan;87(1):315-424.
30. Szabo C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2007 Aug;6(8):662-80.
31. Sun J, Druhan LJ, Zweier JL. Reactive oxygen and nitrogen species regulate inducible nitric oxide synthase function shifting the balance of nitric oxide and superoxide production. *Arch Biochem Biophys*. 2010 Feb 15;494(2):130-7.
32. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov 7;340(8828):1111-5.
33. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Jan;300(1):H2-12.
34. Nigam A, Mitchell GF, Lambert J, Tardif JC. Relation between conduit vessel stiffness (assessed by tonometry) and endothelial function (assessed by flow-mediated dilatation) in patients with and without coronary heart disease. *Am J Cardiol*. 2003 Aug 15;92(4):395-9.
35. Shimbo D, Grahame-Clarke C, Miyake Y, Rodriguez C, Sciacca R, Di Tullio M, et al. The association between endothelial dysfunction and cardiovascular outcomes in a population-based multi-ethnic cohort. *Atherosclerosis*. 2007 May;192(1):197-203.
36. Gokce N, Keaney JF, Jr., Hunter LM, Watkins MT, Menzoian JO, Vita JA. Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function: a prospective study. *Circulation*. 2002 Apr 2;105(13):1567-72.
37. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009 Aug 11;120(6):502-9.

38. Green DJ, Jones H, Thijssen D, Cable NT, Atkinson G. Flow-mediated dilation and cardiovascular event prediction: does nitric oxide matter? *Hypertension*. 2011 Mar;57(3):363-9.
39. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001 Nov 27;104(22):2673-8.
40. Keymel S, Heinen Y, Balzer J, Rassaf T, Kelm M, Lauer T, et al. Characterization of macro-and microvascular function and structure in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiovasc Dis*. 2011;1(1):68-75.
41. Kullo IJ, Malik AR, Santos S, Ehram JE, Turner ST. Association of cardiovascular risk factors with microvascular and conduit artery function in hypertensive subjects. *Am J Hypertens*. 2007 Jul;20(7):735-42.
42. Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, Buithieu J, Rose MS, Conradson H, et al. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation*. 2011 Jan 18;123(2):163-9.
43. Lauer T, Heiss C, Balzer J, Keymel S, Kelm M, Preik M, et al. Resting microvascular resistance and conduit artery tone: relevance to endothelium-dependent flow-mediated dilation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2008 Dec;15(6):677-82.
44. Muris DM, Houben AJ, Schram MT, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction: an emerging pathway in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Rev Endocr Metab Disord*. 2013 Mar;14(1):29-38.
45. Dhindsa M, Sommerlad SM, DeVan AE, Barnes JN, Sugawara J, Ley O, et al. Interrelationships among noninvasive measures of postischemic macro- and microvascular reactivity. *J Appl Physiol*. 2008 Aug;105(2):427-32.
46. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008 May 13;117(19):2467-74.
47. Moerland M, Kales AJ, Schrier L, van Dongen MG, Bradnock D, Burggraaf J. Evaluation of the EndoPAT as a Tool to Assess Endothelial Function. *Int J Vasc Med*. 2012;2012:904141.
48. Ahmadi N, Nabavi V, Nuguri V, Hajsadeghi F, Flores F, Akhtar M, et al. Low fingertip temperature rebound measured by digital thermal monitoring strongly correlates with the

presence and extent of coronary artery disease diagnosed by 64-slice multi-detector computed tomography. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2009 Oct;25(7):725-38.

49. Boushel R, Langberg H, Olesen J, Gonzales-Alonzo J, Bulow J, Kjaer M. Monitoring tissue oxygen availability with near infrared spectroscopy (NIRS) in health and disease. *Scand J Med Sci Sports*. 2001 Aug;11(4):213-22.

50. Kragelj R, Jarm T, Erjavec T, Presern-Strukelj M, Miklavcic D. Parameters of postocclusive reactive hyperemia measured by near infrared spectroscopy in patients with peripheral vascular disease and in healthy volunteers. *Ann Biomed Eng*. 2001 Apr;29(4):311-20.

51. Gayda M, Juneau M, Tardif J, Lambert J, Nigam A. Effects of cardiovascular risk factors on macrovascular endothelial function and microvascular reactivity assessed with near-infrared spectroscopy in adults with different cardiovascular status. *Eur Heart J*. 2011;32(suppl. 1):857.

52. Siafaka A, Angelopoulos E, Kritikos K, Poriazi M, Basios N, Gerovasili V, et al. Acute effects of smoking on skeletal muscle microcirculation monitored by near-infrared spectroscopy. *Chest*. 2007 May;131(5):1479-85.

53. Gerovasili V, Drakos S, Kravari M, Malliaras K, Karatzanos E, Dimopoulos S, et al. Physical exercise improves the peripheral microcirculation of patients with chronic heart failure. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2009 Nov-Dec;29(6):385-91.

54. Fard A, Tuck CH, Donis JA, Sciacca R, Di Tullio MR, Wu HD, et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Sep;20(9):2039-44.

55. Armah CK, Jackson KG, Doman I, James L, Cheghani F, Minihane AM. Fish oil fatty acids improve postprandial vascular reactivity in healthy men. *Clin Sci (Lond)*. 2008 Jun;114(11):679-86.

56. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 Jan;31(1):27-33.

57. Abdu TA, Elhadd T, Pfeifer M, Clayton RN. Endothelial dysfunction in endocrine disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2001 Aug;12(6):257-65.

58. Shils M. SM, Ross C., Caballero B. and Cousins R. *Modern Nutrition in health and disease*. Tenth edition ed. Wilkins LW, editor: Wolters Kluwer Company; 2006.

59. Lusis AJ, Pajukanta P. A treasure trove for lipoprotein biology. *Nat Genet*. 2008 Feb;40(2):129-30.

60. Ahmadian M, Wang Y, Sul HS. Lipolysis in adipocytes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010 May;42(5):555-9.
61. Yu YH, Ginsberg HN. Adipocyte signaling and lipid homeostasis: sequelae of insulin-resistant adipose tissue. *Circ Res.* 2005 May 27;96(10):1042-52.
62. Xiao C, Hsieh J, Adeli K, Lewis GF. Gut-liver interaction in triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011 Sep;301(3):E429-46.
63. Mead JR, Irvine SA, Ramji DP. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med (Berl).* 2002 Dec;80(12):753-69.
64. Chan DC, Watts GF. Postprandial lipoprotein metabolism in familial hypercholesterolemia: thinking outside the box. *Metabolism.* 2011 Sep 23.
65. Assmann G, Gotto AM, Jr. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation.* 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III8-14.
66. Sniderman AD, Cianflone K, Summers L, Fielding B, Frayn K. The acylation-stimulating protein pathway and regulation of postprandial metabolism. *Proc Nutr Soc.* 1997 Jul;56(2):703-12.
67. Taskinen MR. Diabetic dyslipidemia. *Atheroscler Suppl.* 2002 May;3(1):47-51.
68. Yamashita M, Tamasawa N, Matsuki K, Tanabe J, Murakami H, Matsui J, et al. Insulin suppresses HDL-mediated cholesterol efflux from macrophages through inhibition of neutral cholesteryl ester hydrolase and ATP-binding cassette transporter G1 expressions. *J Atheroscler Thromb.* 2010 Nov 27;17(11):1183-9.
69. Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nature reviews Genetics.* 2009 Feb;10(2):109-21.
70. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012 Sep;32(9):2045-51.
71. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115-26.
72. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Opin Lipidol.* 1998 Oct;9(5):471-4.
73. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. Current concepts. *JAMA.* 1990 Dec 19;264(23):3047-52.
74. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, et al. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Jul;16(7):831-42.

75. Skalen K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hulten LM, Wiklund O, Innerarity TL, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature*. 2002 Jun 13;417(6890):750-4.
76. Uchida Y, Maezawa Y, Hiruta N, Shimoyama E. Molecular imaging of low-density lipoprotein in human coronary plaques by color fluorescent angioscopy and microscopy. *PLoS One*. 2012;7(11):e50678.
77. Nilsson J, Bjorkbacka H, Fredrikson GN. Apolipoprotein B100 autoimmunity and atherosclerosis - disease mechanisms and therapeutic potential. *Curr Opin Lipidol*. 2012 Oct;23(5):422-8.
78. Wong BW, Meredith A, Lin D, McManus BM. The biological role of inflammation in atherosclerosis. *Can J Cardiol*. 2012 Nov-Dec;28(6):631-41.
79. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*. 1995 Aug 1;92(3):657-71.
80. Moreno PR. Vulnerable plaque: definition, diagnosis, and treatment. *Cardiol Clin*. 2010 Feb;28(1):1-30.
81. Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. *N Engl J Med*. 2013 May 23;368(21):2004-13.
82. WHO. Global Atlas on Cardiovascular Diseases Prevention and Control. Geneva 2011.
83. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008 Feb 12;117(6):743-53.
84. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., Larson MG, Massaro JM, Vasan RS. Predicting the 30-year risk of cardiovascular disease: the framingham heart study. *Circulation*. 2009 Jun 23;119(24):3078-84.
85. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253.
86. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of obesity in the United States, 2009-2010. *NCHS Data Brief*. 2012 Jan(82):1-8.
87. Bays H, Abate N, Chandalia M. Adiposopathy: sick fat causes high blood sugar, high blood pressure and dyslipidemia. *Future Cardiol*. 2005 Jan;1(1):39-59.
88. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 Dec 17;106(25):3143-421.

89. Wells JC. Obesity as malnutrition: the dimensions beyond energy balance. *Eur J Clin Nutr.* 2013 May;67(5):507-12.
90. Lustig RH. Childhood obesity: behavioral aberration or biochemical drive? Reinterpreting the First Law of Thermodynamics. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006 Aug;2(8):447-58.
91. Despres JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. *Circulation.* 2012 Sep 4;126(10):1301-13.
92. Patel P, Abate N. Role of subcutaneous adipose tissue in the pathogenesis of insulin resistance. *J Obes.* 2013;2013:489187.
93. Bays HE, Gonzalez-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, Schorr AB, et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008 Mar;6(3):343-68.
94. Martin BJ, Verma S, Charbonneau F, Title LM, Lonn EM, Anderson TJ. The relationship between anthropometric indexes of adiposity and vascular function in the FATE cohort. *Obesity (Silver Spring).* 2013 Feb;21(2):266-73.
95. Despres JP. Abdominal obesity and cardiovascular disease: is inflammation the missing link? *Can J Cardiol.* 2012 Nov-Dec;28(6):642-52.
96. de Ferranti S, Mozaffarian D. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin Chem.* 2008 Jun;54(6):945-55.
97. Aziz A, Wheatcroft S. Insulin resistance in Type 2 diabetes and obesity: implications for endothelial function. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2011 Apr;9(4):403-7.
98. Davison K, Bircher S, Hill A, Coates AM, Howe PR, Buckley JD. Relationships between Obesity, Cardiorespiratory Fitness, and Cardiovascular Function. *J Obes.* 2010;2010:191253.
99. Keaney JF, Jr., Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Mar 1;23(3):434-9.
100. Chan DC, Barrett PH, Ooi EM, Ji J, Chan DT, Watts GF. Very low density lipoprotein metabolism and plasma adiponectin as predictors of high-density lipoprotein apolipoprotein A-I kinetics in obese and nonobese men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Mar;94(3):989-97.
101. Bays HE. "Sick fat," metabolic disease, and atherosclerosis. *Am J Med.* 2009 Jan;122(1 Suppl):S26-37.

102. Carpentier AC. Postprandial fatty acid metabolism in the development of lipotoxicity and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2008 Apr;34(2):97-107.
103. Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am J Clin Nutr.* 2005 Mar;81(3):555-63.
104. Lignes directrices de pratique clinique 2008 de l'Association canadienne du diabète pour la prévention et le traitement du diabète au Canada. *Can J Diabetes.* 2008;32(suppl. 2):S1 - S225.
105. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes.* 2005 Jun;54(6):1615-25.
106. Heart health and cholesterol levels of Canadians, 2007 to 2009: Statistics Canada 2010.
107. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet.* 2005 Oct 8;366(9493):1267-78.
108. Anderson TJ, Gregoire J, Hegele RA, Couture P, Mancini GB, McPherson R, et al. 2012 update of the canadian cardiovascular society guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. *Can J Cardiol.* 2013 Feb;29(2):151-67.
109. Sampson UK, Fazio S, Linton MF. Residual cardiovascular risk despite optimal LDL cholesterol reduction with statins: the evidence, etiology, and therapeutic challenges. *Curr Atheroscler Rep.* 2012 Feb;14(1):1-10.
110. Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). Prospective Cardiovascular Munster study. *Am J Cardiol.* 1992 Sep 15;70(7):733-7.
111. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011 May 24;123(20):2292-333.
112. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA.* 2009 Nov 11;302(18):1993-2000.

113. Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R. Triglycerides and heart disease: still a hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Aug;31(8):1716-25.
114. Frayn KN. Insulin resistance, impaired postprandial lipid metabolism and abdominal obesity. A deadly triad. *Med Princ Pract.* 2002;11 Suppl 2:31-40.
115. Lamarche B, Uffelman KD, Carpentier A, Cohn JS, Steiner G, Barrett PH, et al. Triglyceride enrichment of HDL enhances in vivo metabolic clearance of HDL apo A-I in healthy men. *J Clin Invest.* 1999 Apr;103(8):1191-9.
116. Minihane AM. Fish oil omega-3 fatty acids and cardio-metabolic health, alone or with statins. *Eur J Clin Nutr.* 2013 May;67(5):536-40.
117. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA.* 2007 Jul 18;298(3):299-308.
118. Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, et al. Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol.* 2011 May;9(3):258-70.
119. Wilhelm MG, Cooper AD. Induction of atherosclerosis by human chylomicron remnants: a hypothesis. *J Atheroscler Thromb.* 2003;10(3):132-9.
120. Kluge MA, Fetterman JL, Vita JA. Mitochondria and endothelial function. *Circ Res.* 2013 Apr 12;112(8):1171-88.
121. Heinecke JW. The protein cargo of HDL: implications for vascular wall biology and therapeutics. *J Clin Lipidol.* 2010 Sep-Oct;4(5):371-5.
122. Otocka-Kmiecik A, Mikhailidis DP, Nicholls SJ, Davidson M, Rysz J, Banach M. Dysfunctional HDL: a novel important diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease? *Prog Lipid Res.* 2012 Oct;51(4):314-24.
123. Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein--the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med.* 1989 Nov 9;321(19):1311-6.
124. Castelli WP. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. *Can J Cardiol.* 1988 Jul;4 Suppl A:5A-10A.
125. Despres JP. HDL cholesterol studies--more of the same? *Nat Rev Cardiol.* 2013 Feb;10(2):70-2.
126. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003 Nov 5;290(17):2292-300.

127. Riwanto M, Rohrer L, Roschitzki B, Besler C, Mocharla P, Mueller M, et al. Altered activation of endothelial anti- and proapoptotic pathways by high-density lipoprotein from patients with coronary artery disease: role of high-density lipoprotein-proteome remodeling. *Circulation*. 2013 Feb 26;127(8):891-904.
128. Ragbir S, Farmer JA. Dysfunctional high-density lipoprotein and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2010 Sep;12(5):343-8.
129. Wagner AM, Jorba O, Rigla M, Alonso E, Ordonez-Llanos J, Perez A. LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratio is a good predictor of LDL phenotype B in type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2002 Dec;39(4):215-20.
130. Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Almeras N, et al. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation*. 2000 Jul 11;102(2):179-84.
131. Lamarche B, Tchernof A, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, et al. Fasting insulin and apolipoprotein B levels and low-density lipoprotein particle size as risk factors for ischemic heart disease. *JAMA*. 1998 Jun 24;279(24):1955-61.
132. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004 Sep 11-17;364(9438):937-52.
133. Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, Jafri K, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011 Jan 13;364(2):127-35.
134. Montezano AC, Touyz RM. Molecular mechanisms of hypertension--reactive oxygen species and antioxidants: a basic science update for the clinician. *Can J Cardiol*. 2012 May;28(3):288-95.
135. Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA*. 1996 May 22-29;275(20):1571-6.
136. McAlister FA, Robitaille C, Gillespie C, Yuan K, Rao DP, Grover S, et al. The Impact of Cardiovascular Risk-Factor Profiles on Blood Pressure Control Rates in Adults From Canada and the United States. *Can J Cardiol*. 2013 Feb 28.
137. Mendizabal Y, Llorens S, Nava E. Hypertension in metabolic syndrome: vascular pathophysiology. *Int J Hypertens*. 2013;2013:230868.
138. Sowers JR. Diabetes mellitus and vascular disease. *Hypertension*. 2013 May;61(5):943-7.

139. Leitzmann MF, Park Y, Blair A, Ballard-Barbash R, Mouw T, Hollenbeck AR, et al. Physical activity recommendations and decreased risk of mortality. *Arch Intern Med*. 2007 Dec 10;167(22):2453-60.
140. Booth FW, Hargreaves M. Understanding multi-organ pathology from insufficient exercise. *J Appl Physiol*. 2011 Oct;111(4):1199-200.
141. Thijssen DH, Green DJ, Hopman MT. Blood vessel remodeling and physical inactivity in humans. *J Appl Physiol*. 2011 Dec;111(6):1836-45.
142. Wen CP, Wai JP, Tsai MK, Yang YC, Cheng TY, Lee MC, et al. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. *Lancet*. 2011 Oct 1;378(9798):1244-53.
143. Stensel D. Exercise, appetite and appetite-regulating hormones: implications for food intake and weight control. *Ann Nutr Metab*. 2010;57 Suppl 2:36-42.
144. Canadian Tobacco Use Monitoring Survey: Health Canada 2012.
145. Price JF, Mowbray PI, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease: Edinburgh Artery Study. *Eur Heart J*. 1999 Mar;20(5):344-53.
146. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol*. 2004 May 19;43(10):1731-7.
147. Barua RS, Ambrose JA, Srivastava S, DeVoe MC, Eales-Reynolds LJ. Reactive oxygen species are involved in smoking-induced dysfunction of nitric oxide biosynthesis and upregulation of endothelial nitric oxide synthase: an in vitro demonstration in human coronary artery endothelial cells. *Circulation*. 2003 May 13;107(18):2342-7.
148. Amato M, Frigerio B, Castelnovo S, Ravani A, Sansaro D, Tremoli E, et al. Effects of smoking regular or light cigarettes on brachial artery flow-mediated dilation. *Atherosclerosis*. 2013 Mar 13.
149. Zhou MS, Chadipiralla K, Mendez AJ, Jaimes EA, Silverstein RL, Webster K, et al. Nicotine potentiates proatherogenic effects of oxLDL by stimulating and upregulating macrophage CD36 signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013 Aug;305(4):H563-74.
150. Shao B, Fu X, McDonald TO, Green PS, Uchida K, O'Brien KD, et al. Acrolein impairs ATP binding cassette transporter A1-dependent cholesterol export from cells through site-specific modification of apolipoprotein A-I. *J Biol Chem*. 2005 Oct 28;280(43):36386-96.

151. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006 May;23(5):469-80.
152. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 2006 Dec 14;444(7121):881-7.
153. Despres JP. Health consequences of visceral obesity. *Ann Med.* 2001 Nov;33(8):534-41.
154. Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, Wareham NJ, Kastelein JJ, Khaw KT, et al. The hypertriglyceridemic-waist phenotype and the risk of coronary artery disease: results from the EPIC-Norfolk prospective population study. *CMAJ.* 2010 Sep 21;182(13):1427-32.
155. Berry JD, Liu K, Folsom AR, Lewis CE, Carr JJ, Polak JF, et al. Prevalence and progression of subclinical atherosclerosis in younger adults with low short-term but high lifetime estimated risk for cardiovascular disease: the coronary artery risk development in young adults study and multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation.* 2009 Jan 27;119(3):382-9.
156. Stamler J, Stamler R, Neaton JD, Wentworth D, Daviglus ML, Garside D, et al. Low risk-factor profile and long-term cardiovascular and noncardiovascular mortality and life expectancy: findings for 5 large cohorts of young adult and middle-aged men and women. *JAMA.* 1999 Dec 1;282(21):2012-8.
157. Oikonen M, Laitinen TT, Magnussen CG, Steinberger J, Sinaiko AR, Dwyer T, et al. Ideal Cardiovascular Health in Young Adult Populations From the United States, Finland, and Australia and Its Association With cIMT: The International Childhood Cardiovascular Cohort Consortium. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(3):e000244.
158. Folsom AR, Yatsuya H, Nettleton JA, Lutsey PL, Cushman M, Rosamond WD. Community prevalence of ideal cardiovascular health, by the American Heart Association definition, and relationship with cardiovascular disease incidence. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Apr 19;57(16):1690-6.
159. Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA, et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr.* 2005 Feb;81(2):341-54.
160. Carrera Bastos P, Fontes-Villalba M., O'Keefe JH., Lindeberg S. and Cordain L. The western diet and lifestyle and diseases of civilization. *Research Reporst in Clinical Cardiology.* 2011;2:15-35.

161. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, et al. Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010 Feb 23;121(7):e46-e215.
162. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*. 2002 Oct;56(8):365-79.
163. Mozaffarian D, Hao T, Rimm EB, Willett WC, Hu FB. Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men. *N Engl J Med*. 2011 Jun 23;364(25):2392-404.
164. Pereira MA, Kartashov AI, Ebbeling CB, Van Horn L, Slattery ML, Jacobs DR, Jr., et al. Fast-food habits, weight gain, and insulin resistance (the CARDIA study): 15-year prospective analysis. *Lancet*. 2005 Jan 1-7;365(9453):36-42.
165. Kafatos A, Diacatou A, Voukiklaris G, Nikolakakis N, Vlachonikolis J, Kounali D, et al. Heart disease risk-factor status and dietary changes in the Cretan population over the past 30 y: the Seven Countries Study. *Am J Clin Nutr*. 1997 Jun;65(6):1882-6.
166. Popkin BM, Adair LS, Ng SW. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutr Rev*. 2012 Jan;70(1):3-21.
167. Egusa G, Watanabe H, Ohshita K, Fujikawa R, Yamane K, Okubo M, et al. Influence of the extent of westernization of lifestyle on the progression of preclinical atherosclerosis in Japanese subjects. *J Atheroscler Thromb*. 2002;9(6):299-304.
168. Woo KS, Chook P, Raitakari OT, McQuillan B, Feng JZ, Celermajer DS. Westernization of Chinese adults and increased subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Oct;19(10):2487-93.
169. Odegaard AO, Koh WP, Yuan JM, Gross MD, Pereira MA. Western-style fast food intake and cardiometabolic risk in an Eastern country. *Circulation*. 2012 Jul 10;126(2):182-8.
170. Albaugh L. Crete, A Case Study of an Underdeveloped Area. Princeton University Press. 1953.
171. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol*. 1986 Dec;124(6):903-15.
172. Lapointe A, Couillard C, Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *J Nutr Biochem*. 2006 Oct;17(10):645-58.
173. Kris-Etherton P, Eckel RH, Howard BV, St Jeor S, Bazzarre TL. AHA Science Advisory: Lyon Diet Heart Study. Benefits of a Mediterranean-style, National Cholesterol

Education Program/American Heart Association Step I Dietary Pattern on Cardiovascular Disease. *Circulation*. 2001 Apr 3;103(13):1823-5.

174. Middleton G. Mediterranean Diet Pyramid. Oldways Preservation and Exchange Trust; 2009.

175. Bergouignan A, Momken I, Schoeller DA, Simon C, Blanc S. Metabolic fate of saturated and monounsaturated dietary fats: the Mediterranean diet revisited from epidemiological evidence to cellular mechanisms. *Prog Lipid Res*. 2009 May-Jul;48(3-4):128-47.

176. Schroder H, Marrugat J, Vila J, Covas MI, Elosua R. Adherence to the traditional mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a spanish population. *J Nutr*. 2004 Dec;134(12):3355-61.

177. Sanchez-Villegas A, Bes-Rastrollo M, Martinez-Gonzalez MA, Serra-Majem L. Adherence to a Mediterranean dietary pattern and weight gain in a follow-up study: the SUN cohort. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Feb;30(2):350-8.

178. Dai J, Jones DP, Goldberg J, Ziegler TR, Bostick RM, Wilson PW, et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr*. 2008 Nov;88(5):1364-70.

179. Ambring A, Friberg P, Axelsen M, Laffrenzen M, Taskinen MR, Basu S, et al. Effects of a Mediterranean-inspired diet on blood lipids, vascular function and oxidative stress in healthy subjects. *Clin Sci (Lond)*. 2004 May;106(5):519-25.

180. Hagfors L, Leanderson P, Skoldstam L, Andersson J, Johansson G. Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr J*. 2003 Jul 30;2:5.

181. Fito M, Guxens M, Corella D, Saez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 2007 Jun 11;167(11):1195-203.

182. Lapointe A, Goulet J, Couillard C, Lamarche B, Lemieux S. A nutritional intervention promoting the Mediterranean food pattern is associated with a decrease in circulating oxidized LDL particles in healthy women from the Quebec City metropolitan area. *J Nutr*. 2005 Mar;135(3):410-5.

183. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohooou C, Skoumas J, Stefanadis C. Status and management of blood lipids in Greek adults and their relation to socio-demographic, lifestyle

and dietary factors: the ATTICA Study. Blood lipids distribution in Greece. *Atherosclerosis*. 2004 Apr;173(2):353-61.

184. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006 Dec;16(8):559-68.

185. Azzini E, Polito A, Fumagalli A, Intorre F, Venneria E, Durazzo A, et al. Mediterranean Diet Effect: an Italian picture. *Nutr J*. 2011;10:125.

186. Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutierrez V, Covas MI, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006 Jul 4;145(1):1-11.

187. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA*. 2004 Sep 22;292(12):1440-6.

188. Rallidis LS, Lekakis J, Kolomvotsou A, Zampelas A, Vamvakou G, Efstathiou S, et al. Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr*. 2009 Aug;90(2):263-8.

189. Schroder H. Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem*. 2007 Mar;18(3):149-60.

190. Ajala O, English P, Pinkney J. Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2013 Jan 30.

191. Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar DR, Witkow S, Greenberg I, et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med*. 2008 Jul 17;359(3):229-41.

192. Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. Nov;92(5):1189-96.

193. Martinez-Gonzalez MA, Bes-Rastrollo M. Dietary patterns, Mediterranean diet, and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2014 Feb;25(1):20-6.

194. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, Covas MI, Pharm D, Corella D, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med*. 2013 Feb 25.

195. Aleix Sala-Vila ESR-M, R. Gilabert, I. Núñez, E. Toledo, V. Ruiz-Gutiérrez, R.M. Lamuela-Raventós, X. Pintó, F. Arós, M. Fioi, M.I. Covas, M.Á. Martínez-González, R.

Estruch, E. Ros, editor. Mediterranean diet and 2.4-year changes in ultrasound-assessed carotid intima-media thickness and plaque: a sub-study of the predimed trial. European Atherosclerosis Society; 2013; Lyon.

196. de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation*. 1999 Feb 16;99(6):779-85.

197. Lustig RH. Fructose: it's "alcohol without the buzz". *Adv Nutr*. 2013 Mar;4(2):226-35.

198. Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L. Components of a cardioprotective diet: new insights. *Circulation*. 2011 Jun 21;123(24):2870-91.

199. Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med*. 2008;10(7):160.

200. Liu S, Manson JE, Buring JE, Stampfer MJ, Willett WC, Ridker PM. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-aged women. *Am J Clin Nutr*. 2002 Mar;75(3):492-8.

201. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2003 May;77(5):1146-55.

202. Vafeiadou K, Weech M, Sharma V, Yaqoob P, Todd S, Williams CM, et al. A review of the evidence for the effects of total dietary fat, saturated, monounsaturated and n-6 polyunsaturated fatty acids on vascular function, endothelial progenitor cells and microparticles. *Br J Nutr*. 2012 Feb;107(3):303-24.

203. Hunter JE, Zhang J, Kris-Etherton PM. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2010 Jan;91(1):46-63.

204. Kris-Etherton PM, Griel AE, Psota TL, Gebauer SK, Zhang J, Etherton TD. Dietary stearic acid and risk of cardiovascular disease: intake, sources, digestion, and absorption. *Lipids*. 2005 Dec;40(12):1193-200.

205. Siri-Tarino PW, Sun Q, Hu FB, Krauss RM. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2010 Mar;91(3):535-46.

206. Micha R, Michas G, Mozaffarian D. Unprocessed red and processed meats and risk of coronary artery disease and type 2 diabetes--an updated review of the evidence. *Curr Atheroscler Rep*. 2012 Dec;14(6):515-24.
207. Micha R, Michas G, Lajous M, Mozaffarian D. Processing of meats and cardiovascular risk: time to focus on preservatives. *BMC Med*. 2013 May 23;11(1):136.
208. Elwood PC, Pickering JE, Givens DI, Gallacher JE. The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes: an overview of the evidence. *Lipids*. 2010 Oct;45(10):925-39.
209. de Oliveira Otto MC, Nettleton JA, Lemaitre RN, L MS, Kromhout D, Rich SS, et al. Biomarkers of dairy Fatty acids and risk of cardiovascular disease in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(4):e000092.
210. Kappeler R, Eichholzer M, Rohrmann S. Meat consumption and diet quality and mortality in NHANES III. *Eur J Clin Nutr*. 2013 Jun;67(6):598-606.
211. Pan A, Sun Q, Bernstein AM, Schulze MB, Manson JE, Stampfer MJ, et al. Red meat consumption and mortality: results from 2 prospective cohort studies. *Arch Intern Med*. 2012 Apr 9;172(7):555-63.
212. Mozaffarian D, Micha R, Wallace S. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS Med*. 2010 Mar;7(3):e1000252.
213. Mozaffarian D, Aro A, Willett WC. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *Eur J Clin Nutr*. 2009 May;63 Suppl 2:S5-21.
214. TRANSforming the food supply: Health Canada 2006.
215. Kotchen TA, Cowley AW, Jr., Frohlich ED. Salt in health and disease--a delicate balance. *N Engl J Med*. 2013 Mar 28;368(13):1229-37.
216. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 2001 Jan 4;344(1):3-10.
217. He FJ, Li J, Macgregor GA. Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ*. 2013;346:f1325.
218. Bibbins-Domingo K, Chertow GM, Coxson PG, Moran A, Lightwood JM, Pletcher MJ, et al. Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2010 Feb 18;362(7):590-9.

219. Fernandez-Jarne E, Martinez-Losa E, Prado-Santamaria M, Brugarolas-Brufau C, Serrano-Martinez M, Martinez-Gonzalez MA. Risk of first non-fatal myocardial infarction negatively associated with olive oil consumption: a case-control study in Spain. *Int J Epidemiol.* 2002 Apr;31(2):474-80.
220. Samieri C, Feart C, Proust-Lima C, Peuchant E, Tzourio C, Stapf C, et al. Olive oil consumption, plasma oleic acid, and stroke incidence: the Three-City Study. *Neurology.* 2011 Aug 2;77(5):418-25.
221. Appel LJ, Van Horn L. Did the PREDIMED trial test a Mediterranean diet? *N Engl J Med.* 2013 Apr 4;368(14):1353-4.
222. Kishimoto Y, Tani M, Kondo K. Pleiotropic preventive effects of dietary polyphenols in cardiovascular diseases. *Eur J Clin Nutr.* 2013 May;67(5):532-5.
223. Covas MI, Nyyssonen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H, et al. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2006 Sep 5;145(5):333-41.
224. Fito M, de la Torre R, Covas MI. Olive oil and oxidative stress. *Mol Nutr Food Res.* 2007 Oct;51(10):1215-24.
225. Harris WS, Miller M, Tighe AP, Davidson MH, Schaefer EJ. Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis.* 2008 Mar;197(1):12-24.
226. Bays HE, Tighe AP, Sadovsky R, Davidson MH. Prescription omega-3 fatty acids and their lipid effects: physiologic mechanisms of action and clinical implications. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008 Mar;6(3):391-409.
227. Davidson MH. Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.* 2006 Aug 21;98(4A):27i-33i.
228. Wijendran V, Hayes KC. Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:597-615.
229. Park Y, Harris WS. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J Lipid Res.* 2003 Mar;44(3):455-63.
230. Chen H, Li D, Chen J, Roberts GJ, Saldeen T, Mehta JL. EPA and DHA attenuate ox-LDL-induced expression of adhesion molecules in human coronary artery endothelial cells via protein kinase B pathway. *J Mol Cell Cardiol.* 2003 Jul;35(7):769-75.
231. de Roos MaB. Long-Chain n-3 polyunsaturated fatty acids: new insights into mechanisms relating to inflammation and coronary heart disease. *BJP.* 2009;158:413-28.

232. Mozaffarian D, Wu JH. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Nov 8;58(20):2047-67.
233. Van Horn L, McCoin M, Kris-Etherton PM, Burke F, Carson JA, Champagne CM, et al. The evidence for dietary prevention and treatment of cardiovascular disease. *J Am Diet Assoc*. 2008 Feb;108(2):287-331.
234. Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic West-coast Eskimos. *Lancet*. 1971 Jun 5;1(7710):1143-5.
235. Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet*. 1978 Jul 15;2(8081):117-9.
236. Whelton SP, He J, Whelton PK, Muntner P. Meta-analysis of observational studies on fish intake and coronary heart disease. *Am J Cardiol*. 2004 May 1;93(9):1119-23.
237. Roncaglioni MC, Tombesi M, Avanzini F, Barlera S, Caimi V, Longoni P, et al. n-3 fatty acids in patients with multiple cardiovascular risk factors. *N Engl J Med*. 2013 May 9;368(19):1800-8.
238. Rizos EC, Ntzani EE, Bika E, Kostapanos MS, Elisaf MS. Association between omega-3 fatty acid supplementation and risk of major cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2012 Sep 12;308(10):1024-33.
239. Berryman CE, Preston AG, Karmally W, Deckelbaum RJ, Kris-Etherton PM. Effects of almond consumption on the reduction of LDL-cholesterol: a discussion of potential mechanisms and future research directions. *Nutr Rev*. Apr;69(4):171-85.
240. Brown L, Rosner B, Willett WW, Sacks FM. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1999 Jan;69(1):30-42.
241. Jenkins DJ, Kendall CW, Vuksan V, Vidgen E, Parker T, Faulkner D, et al. Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. *Am J Clin Nutr*. 2002 May;75(5):834-9.
242. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002 Jul 6;360(9326):23-33.
243. Venkov CD, Myers PR, Tanner MA, Su M, Vaughan DE. Ethanol increases endothelial nitric oxide production through modulation of nitric oxide synthase expression. *Thromb Haemost*. 1999 Apr;81(4):638-42.

244. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*. 1979 Sep;60(3):473-85.
245. van Ommen B, Keijer J, Heil SG, Kaput J. Challenging homeostasis to define biomarkers for nutrition related health. *Mol Nutr Food Res*. 2009 Jul;53(7):795-804.
246. Lacroix S, DesRosiers C, Tardif JC, Nigam A. The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction. *Nutr Res Rev*. 2012 Dec;25(2):288-301.
247. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. The postprandial effect of components of the Mediterranean diet on endothelial function. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Nov 1;36(5):1455-60.
248. Ghiadoni L. Sexual hormones and endothelial function in humans. *biomedicine and pharmacotherapy*. 2006 septembre 2006;60(8):485.
249. Dupuis J, Tardif JC, Cernacek P, Theroux P. Cholesterol reduction rapidly improves endothelial function after acute coronary syndromes. The RECIFE (reduction of cholesterol in ischemia and function of the endothelium) trial. *Circulation*. 1999 Jun 29;99(25):3227-33.
250. Livera LN, Spencer SA, Thorniley MS, Wickramasinghe YA, Rolfe P. Effects of hypoxaemia and bradycardia on neonatal cerebral haemodynamics. *Arch Dis Child*. 1991 Apr;66(4 Spec No):376-80.
251. Lacroix S, Gayda M, Gremeaux V, Juneau M, Tardif J-C, Nigam A. Reproducibility of near-infrared spectroscopy parameters measured during brachial artery occlusion and reactive hyperemia in healthy men. *Journal of Biomedical Optics*. 2012;17(7):077010.
252. Laviolle B, Froger-Bompas C, Guillo P, Sevestre A, Letellier C, Pouchard M, et al. Relative validity and reproducibility of a 14-item semi-quantitative food frequency questionnaire for cardiovascular prevention. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005 Dec;12(6):587-95.
253. Trivel D, Calmels P, Leger L, Busso T, Devillard X, Castells J, et al. Validity and reliability of the Huet questionnaire to assess maximal oxygen uptake. *Can J Appl Physiol*. 2004 Oct;29(5):623-38.
254. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499-502.
255. Gelinas R, Thompson-Legault J, Bouchard B, Daneault C, Mansour A, Gillis MA, et al. Prolonged QT interval and lipid alterations beyond beta-oxidation in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase null mouse hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Sep;301(3):H813-23.

256. Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA*. 2007 Jul 18;298(3):309-16.
257. Giannattasio C, Zoppo A, Gentile G, Failla M, Capra A, Maggi FM, et al. Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Feb;25(2):406-10.
258. Burdge GC, Powell J, Calder PC. Lack of effect of meal fatty acid composition on postprandial lipid, glucose and insulin responses in men and women aged 50-65 years consuming their habitual diets. *Br J Nutr*. 2006 Sep;96(3):489-500.
259. Newens KJ, Thompson AK, Jackson KG, Wright J, Williams CM. DHA-rich fish oil reverses the detrimental effects of saturated fatty acids on postprandial vascular reactivity. *Am J Clin Nutr*. 2011 Sep;94(3):742-8.
260. Bissonnette S, Salem H, Wassef H, Saint-Pierre N, Tardif A, Baass A, et al. Low density lipoprotein delays clearance of triglyceride-rich lipoprotein by human subcutaneous adipose tissue. *J Lipid Res*. 2013 May;54(5):1466-76.
261. Blendea MC, Bard M, Sowers JR, Winer N. High-fat meal impairs vascular compliance in a subgroup of young healthy subjects. *Metabolism*. 2005 Oct;54(10):1337-44.
262. Gaenzer H, Sturm W, Neumayr G, Kirchmair R, Ebenbichler C, Ritsch A, et al. Pronounced postprandial lipemia impairs endothelium-dependent dilation of the brachial artery in men. *Cardiovasc Res*. 2001 Dec;52(3):509-16.
263. Margioris AN. Fatty acids and postprandial inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009 Mar;12(2):129-37.
264. Jackson KG, Wolstencroft EJ, Bateman PA, Yaqoob P, Williams CM. Greater enrichment of triacylglycerol-rich lipoproteins with apolipoproteins E and C-III after meals rich in saturated fatty acids than after meals rich in unsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jan;81(1):25-34.
265. Herieka M, Erridge C. High-fat meal induced postprandial inflammation. *Mol Nutr Food Res*. 2013 Jul 12.
266. Burton-Freeman B, Talbot J, Park E, Krishnankutty S, Edirisinghe I. Protective activity of processed tomato products on postprandial oxidation and inflammation: a clinical trial in healthy weight men and women. *Mol Nutr Food Res*. 2012 Apr;56(4):622-31.
267. Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso G, et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Apr 3;39(7):1145-50.

268. Volek JS, Judelson DA, Silvestre R, Yamamoto LM, Spiering BA, Hatfield DL, et al. Effects of carnitine supplementation on flow-mediated dilation and vascular inflammatory responses to a high-fat meal in healthy young adults. *Am J Cardiol.* 2008 Nov 15;102(10):1413-7.
269. Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacol Ther.* 2006 Jul;111(1):16-26.
270. Spallarossa P, Garibaldi S, Barisione C, Ghigliotti G, Altieri P, Tracchi I, et al. Postprandial serum induces apoptosis in endothelial cells: Role of polymorphonuclear-derived myeloperoxidase and metalloproteinase-9 activity. *Atherosclerosis.* 2008 Jun;198(2):458-67.
271. Wang YI, Schulze J, Raymond N, Tomita T, Tam K, Simon SI, et al. Endothelial inflammation correlates with subject triglycerides and waist size after a high-fat meal. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011 Mar;300(3):H784-91.
272. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr.* 2007 Nov;86(5):1286-92.
273. Skoog T, Dichtl W, Boquist S, Skoglund-Andersson C, Karpe F, Tang R, et al. Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Eur Heart J.* 2002 Mar;23(5):376-83.
274. Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis.* 2007 Jan;190(1):181-6.
275. Burton-Freeman B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science. *Br J Nutr.* 2010 Oct;104 Suppl 3:S1-14.
276. Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda).* 2007 Aug;22:252-60.
277. de Jongh RT, Serne EH, Ijzerman RG, de Vries G, Stehouwer CD. Free fatty acid levels modulate microvascular function: relevance for obesity-associated insulin resistance, hypertension, and microangiopathy. *Diabetes.* 2004 Nov;53(11):2873-82.
278. Liu Z, Liu J, Jahn LA, Fowler DE, Barrett EJ. Infusing lipid raises plasma free fatty acids and induces insulin resistance in muscle microvasculature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Sep;94(9):3543-9.

279. van Genugten RE, Serne EH, Heymans MW, van Raalte DH, Diamant M. Postprandial microvascular function deteriorates in parallel with gradual worsening of insulin sensitivity and glucose tolerance in men with the metabolic syndrome or type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2013 Mar;56(3):583-7.
280. Avogaro A dKS, Federici M, Fadini GP. The Endothelium Abridges Insulin Resistance to Premature Aging. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000262.
281. Brown AJ, Roberts DC. Moderate fish oil intake improves lipemic response to a standard fat meal. A study in 25 healthy men. *Arterioscler Thromb*. 1991 May-Jun;11(3):457-66.
282. Pahkala K, Heinonen OJ, Simell O, Viikari JS, Ronnema T, Niinikoski H, et al. Association of physical activity with vascular endothelial function and intima-media thickness. *Circulation*. 2011 Nov 1;124(18):1956-63.
283. Kavouras SA, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Arnaoutis G, Skoumas Y, et al. Physical Activity and Adherence to Mediterranean Diet Increase Total Antioxidant Capacity: The ATTICA Study. *Cardiol Res Pract*. 2010;2011:248626.
284. Heath RB, Karpe F, Milne RW, Burdge GC, Wootton SA, Frayn KN. Dietary fatty acids make a rapid and substantial contribution to VLDL-triacylglycerol in the fed state. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007 Mar;292(3):E732-9.

Annexes

Annexe 1. Questionnaire de fréquence alimentaire

Initiales du sujet

1. Consommez-vous du fromage ? (1 portion = Cheddar 1 oz ou 30 g)

- ☐ moins de 2 portions par semaine
- ☐ 3 à 6 portions par semaine
- ☐ 1 portion par jour
- ☐ 2 portions par jour
- ☐ 3 portions par jour ou plus

2. Consommez-vous de la viande? (hors volailles)

- ☐ 0 à 2 fois par semaine
- ☐ 3 à 6 fois par semaine
- ☐ 7 fois par semaine ou plus

3. Consommez-vous du poisson (frais, surgelé, ou en conserve) ?

- ☐ moins d'une fois par semaine
- ☐ 1 fois par semaine
- ☐ 2 à 3 fois par semaine
- ☐ 4 fois par semaine ou plus

4. Consommez-vous de la charcuterie (y compris saucisses, hot-dog, pizza toute garnie..) sauf le jambon dégraissé ?

- ☐ 0 à 1 fois par semaine
- ☐ 2 à 3 fois par semaine
- ☐ 4 à 6 fois par semaine
- ☐ 7 fois par semaine ou plus

5. Consommez-vous des quiches, pâtés (poulet, dinde, saumon...), tourtières ?

- ☐ 0 à 1 fois par semaine
- ☐ 2 à 3 fois par semaine
- ☐ 4 fois par semaine ou plus

6. Consommez-vous des frites ?

fréquence : par semaine

- ☐ frites « maison » à l'huile , type d'huile :
- ☐ frites « maison » à la végétaline
- ☐ frites au four surgelées
- ☐ restaurant ou self

7. Consommez-vous des viennoiseries (beignes, muffins, croissants, brioches etc...), pâtisseries du commerce, biscuits-sandwich ou choco?

- ☐ 0 à 1 fois par semaine
- ☐ 2 à 4 fois par semaine
- ☐ 5 fois par semaine ou plus

8. Consommez-vous des fruits et pur jus de fruits : 1 portion = 1 fruit moyen = 1 verre de jus de fruit (200 ml)

- ☐ 0 à 2 portions par semaine
- ☐ 3 à 6 portions par semaine
- ☐ 7 à 13 portions par semaine (au moins 1 fruit par jour)
- ☐ 14 portions par semaine ou plus (au moins 2 fruits par jour)

9. Actuellement, consommez-vous des noix ?

- ☐ oui, quantité par jour.....
- ☐ non

10. Consommez-vous des légumes cuits et soupe de légumes maison: 1 portion = 1 assiette ou 1 bol

- ☐ 0 à 2 portions par semaine
- ☐ 3 à 7 portions par semaine
- ☐ 8 portions ou plus par semaine

11. Consommez-vous des crudités ou salades ?

- ☐ 0 à 2 portions par semaine
- ☐ 3 à 7 portions par semaine
- ☐ 8 portions par semaine ou plus

12. Consommez-vous du beurre ? (et crème fraîche) : 1 portion = 1 plaquette individuelle de 10 à 15 g

- ☐ jamais
- ☐ cru, 1 portion par jour
- ☐ cru, 2 portions par jour
- ☐ cru, 3 portions par jour
- ☐ cru et utilisé en cuisine (soit plus de 3 portions par jour)

13. En dehors du beurre, utilisez-vous une autre matière grasse ? (type margarine)

- **pour cuisiner ?**

- ☐ non
- ☐ oui, laquelle.....
 - à 1 repas par jour (environ 1 plaquette individuelle)
 - à 2 repas par jour (environ 2 plaquettes individuelles)

- **pour tartiner, assaisonner vos plats chauds?**

- ☐ non
- ☐ oui, laquelle.....
 - à 1 repas par jour (soit 1 plaquette individuelle)
 - à 2 repas par jour (soit 2 plaquettes individuelles)
 - 3 portions ou plus par jour (plus de 3 plaquettes individuelles)

14. Consommez-vous de l'huile ?

- **pour cuisiner ?**

- ☐ non

- ☐ oui, laquelle ?.....
 - à 1 repas par jour (environ 1 cuillère à soupe)
 - à 2 repas par jour (environ 2 cuillères à soupe)
- **pour vos vinaigrettes ?**
 - ☐ non
 - ☐ oui, laquelle ?.....
 - 1 assaisonnement par jour (environ 1 cuillère à soupe)
 - 2 assaisonnements par jour (environ 2 cuillères à soupe)
 - 3 assaisonnements ou plus (plus de 2 cuillères à soupe)

Annexe 2. Questionnaire d'activité physique habituelle

Questionnaire Huet-Leger * **Mise en Forme par Xavier Devillard**

Laboratoire de Physiologie de l'Exercice
Université Jean Monnet - CHU de Saint Etienne

* Validé par Trivel et al; 2004: Huet questionnaire validity. Scan.C.JAP; 29:5 623-638

1/ Votre emploi vous demande-t-il un effort physique ?

Intense (maçon, déménageur, etc.)	2
Moyennement intense (livreur, facteur, etc.)	1
Peu intense (vendeur, etc.)	0.5
Sédentaire (travail de bureau)	0

2/ Quel genre d'activité physique avez-vous l'habitude de pratiquer ?

qui fait suer et augmenter le rythme cardiaque (jogging, ski de fond, etc.)	2
qui fait augmenter le rythme respiratoire (badminton, tennis, etc.)	1
qui fait augmenter légèrement le rythme respiratoire (marche, etc.)	0.5
de précision (bowling, tir, etc.)	0

3/ Combien de fois par mois pratiquez-vous vos activités physiques préférées ?

0 à 4 fois par mois	0
5 à 8 fois par mois	1
9 à 12 fois par mois	2
13 fois et plus par mois	3

4/ Quelle est la durée moyenne de chacune de vos séances d'activité physique ?

Note : Si vous avez répondu ``0`` à la question 2, inscrire 0 à cette question.

Moins de 15 minutes	0
16 à 30 minutes	1
31 à 45 minutes	2.5
46 à 60 minutes	3.2
61 minutes et plus	3.5

5/ Habituellement, comment percevez-vous votre effort pendant vos séances d'activité physique ?

Note : Si vous avez répondu ``0`` à la question 2, inscrire 0 à cette question.

très facile	0
Facile	1.5
Moyennement difficile	2.5
Difficile	3
Très difficile	3.5

6/ Entre 10 ans et 16 ans, aviez-vous l'habitude de pratiquer des activités physiques ?

Régulièrement (plus de 4 fois/sem)	2
Peu (moins de 3 fois/sem)	1
Très peu (1 fois/sem)	0

7/ Combien de cigarettes fumez-vous ?

* 0 à 2	0
* 3 à 15	-1
* 16 et plus	-2

8/ A combien estimez-vous votre surplus de poids ?

* 0 à 1 Kg	1
* 1,5 à 3 Kg	0
* 3,5 à 5 Kg	-1
* Plus de 5 Kg	-2

9/ Avez-vous pratiqué en compétition une activité sportive ?

* Non	0
* Oui, compétition départementale	3
* Oui, compétition régionale	4
* Oui, compétition nationale ou internationale	5

10/ Souffrez-vous d'une des pathologies suivantes tout en ayant l'autorisation de votre médecin de pratiquer une activité physique régulière et intense (Diabète, hypertension, problème cardiaque et respiratoire, asthme, obésité, arthrite, etc...) ?

* Oui	-5
* Non	0